

SÉRIE A, N° 756

N° D'ORDRE :

1531

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

L. MUSSO

CHEF DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR D'ALGÉRIE
PROFESSEUR SUPPLÉANT CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE D'ALGER

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES LEVURES ALGÉRIENNES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 24 Décembre 1913 devant la Commission d'examen.

JURY :

Président : M. G. BONNIER.

Examineurs { MM. MICHEL.
HEROUARD.
FERNBACH.

LAVAL

L. BARNEOUD & C^{ie}, IMPRIMEURS

1913

42

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

L. MUSSO

CHEF DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR D'ALGÉRIE

PROFESSEUR SUPPLÉANT CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE D'ALGER

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES LEVURES ALGÉRIENNES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 24 Décembre 1913 devant la Commission d'examen



JURY :

Président : M. G. BONNIER.

Examineurs { MM. MICHEL
HEROUARD.
FERNBACH.

LAVAL

L. BARNÉOUD & C^{ie}, IMPRIMEURS

1913

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. BONNIER

A MES JUGES

MESSIEURS LES PROFESSEURS

MICHEL, HEROUARD, A. FERNBACH

gération des moûts, mais sans doute aussi par l'adaptation ou la sélection des germes et par la multiplication et la diffusion progressive de ces germes mieux adaptés.

Trois causes ont sans doute contribué à cette sélection et à cette diffusion de germes.

En premier lieu, la température élevée et la luminosité très grande auxquelles la vigne est exposée pendant la maturité qui correspond à la période sèche comprise entre les deux saisons de pluie de printemps et d'automne. Les germes les moins résistants à la chaleur et à la lumière ont dû certainement faire place à ceux jouissant d'une plus grande robustesse à ce point de vue.

En second lieu, les germes de la fermentation vinique se sont trouvés en Algérie en présence de moûts riches en sucre puisque le climat favorise beaucoup la maturité du raisin et en présence également de températures élevées pendant la cuvaison puisque les moyens de réfrigération des moûts, dont on dispose, sont forcément limités par la pénurie d'eau et surtout d'eau fraîche. Forcément les levures à pouvoir alcoogène élevé et à plus forte résistance vis-à-vis de la chaleur ont prédominé sur des levures moins vigoureuses.

Enfin, par l'emploi de procédés et de matériel vinaire de plus en plus perfectionnés, on est arrivé en Algérie à obtenir des fermentations viniques excellentes donnant des produits jouissant de qualités spéciales qui les font particulièrement rechercher.

Cette évolution qui a été évidemment plus rapide dans certaines régions que dans d'autres, a fait que, par sélection naturelle, des levures particulièrement adaptées aux nouvelles conditions ont été chaque année multipliées à l'infini puis restituées en partie au sol et à la végétation. On sait, en effet, qu'une partie du dépôt des cuves retourne aux champs par les eaux de lavage, par la fumure, etc., en faisant ainsi rentrer ces levures dans leur cycle biologique normal.

On peut donc dire qu'à l'heure actuelle le vignoble algérien, quoique de création relativement récente, doit posséder des organismes qui lui sont propres. On pouvait donc tenter leur isolement, leur étude et leur sélection, dans la presque certitude de trouver des organismes intéressants et en tout cas susceptibles d'être employés utilement à l'amélioration des fermentations en Algérie.

Depuis les mémorables travaux de Pasteur sur la fermentation, les diverses industries qui participent de ce phénomène ont fait d'un seul coup les immenses progrès que permet une base scientifique rigoureusement établie. L'industrie du vin a subi des améliorations analogues à celles de la Brasserie et de la Distillerie mais d'une façon moins rigoureuse et moins rapide à cause de la période très courte qui dans l'année peut être consacrée à la vinification et des conditions particulières qui régissent cette industrie.

Parmi ces progrès, l'un des mieux étudiés scientifiquement est la purification et la sélection des germes de la fermentation vinique.

Cette méthode, si elle n'est pas encore répandue d'une façon universelle, est au moins bien connue à l'heure actuelle.

Aussi y a-t-il plusieurs années que mon maître, M. le docteur Trabut, demandait à ce que des recherches scientifiques fussent entreprises sur les levures d'Algérie. Persuadé qu'il existe en Algérie des organismes particulièrement adaptés aux conditions spéciales des fermentations alcooliques en pays chauds, il préconisait la sélection de ces organismes indigènes en vue de leur usage industriel. Sur ses conseils et ses indications, j'ai donc entrepris il y a cinq ans l'étude des levures algériennes et des diverses régions chaudes dans un double but de recherches scientifiques et d'applications pratiques.

Mon travail comprend l'étude du plus grand nombre possible de *Saccharomyces ellipsoideus* provenant des départements d'Alger, d'Oran et de Constantine, puis d'un certain nombre

de levures que j'ai pu me procurer originaires de régions vinicoles à température relativement élevée ou produisant des moûts riches en sucre.

Dans cette étude je me suis appliqué plus particulièrement à étudier les propriétés biologiques que présentent ces diverses levures, à comparer les levures recueillies dans les trois départements entre elles et à comparer leur ensemble avec les levures étrangères précitées.

Les levures alcooliques proprement dites ont attiré tout spécialement mon attention et je n'ai retenu en dehors d'elles que quelques organismes un peu différents qui se sont trouvés parmi elles.

Les levures étudiées ont les provenances suivantes :

1^o *Département d'Alger.* — Miliana et Margueritte, Médéa, Rouïba, Bouzaréah, Ténès, Birkadem, Port-Gueydon.

2^o *Département d'Oran.* — Mascara, Tlemcen, Oran, Blad-Touaria, Sidi-Chami, Rivoli.

3^o *Département de Constantine.* — Batna, Meskiana, Lambèse, Héliopolis, Gueulat-bou-Sba, Souk-Ahras.

Et dans chacune de ces régions les recherches ont porté sur les levures des plants de :

Aïn-Kelb, Alicante, Aramon, Cabernet, Carignan, Cinsault, Clairette, Ferhana, Gamay, Mourvèdre, Pinot, Grenache.

Mais les prises d'échantillons n'ont pas toujours été possibles ; certains échantillons ne m'ont pas donné de levures alcooliques proprement dites, si bien que les levures sur lesquelles mon travail a porté en Algérie peuvent se résumer dans le tableau suivant :

L'examen de ce tableau permet de se rendre compte combien l'étude que j'ai entreprise est encore incomplète. Il existe évidemment en Algérie bien d'autres cépages importants et surtout bien d'autres régions vinicoles importantes. En outre, bien des cases de ce tableau sont encore vides.

Je reconnais moi-même tout ce que ce travail a d'inachevé et d'imparfait. Mon désir était de réaliser une étude complète des diverses levures de toutes les régions algériennes, mais j'ai vite compris ce qu'il y avait de matériellement irréalisable dans ce premier projet.

Aujourd'hui ce n'est donc qu'une modeste contribution à l'étude des levures algériennes que je présente, ne considérant la collection déjà formée que comme un noyau autour duquel viendront plus tard se grouper des individus d'origine différente dont l'étude est d'ailleurs déjà entreprise.

Je tiens à transmettre ici l'expression de ma plus vive gratitude à tous ceux qui, par leurs encouragements où leur aide à me procurer les matériaux de travail, m'ont permis de mener à bien cette modeste étude.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES LEVURES ALGÉRIENNES

Le plan adopté pour cette étude a été le suivant :

I

PRÉLÈVEMENT ET ISOLEMENT DES LEVURES

- 1° Prélèvement des échantillons.
- 2° Isolement.

II

SÉLECTION ET ÉTUDE DES LEVURES PURES

A) Première sélection

- 1° *Aspect macroscopique des cultures en milieu liquide.*
- 2° *Aspect microscopique des levures.*
- 3° *Essai de fermentation à 35°.*
- 4° *Essais de fermentation dans des milieux d'acidité croissante.*

B) Seconde sélection

DESCRIPTION DES ESSAIS EFFECTUÉS

- 1° *Résistance à l'acidité.*
- 2° *Résistance à l'alcool.*
- 3° *Essais de fermentation à température élevée.*
- 4° *Etude chimique des fermentations effectuées par les diverses levures.*

RÉSULTATS FOURNIS PAR LES ESSAIS PRÉCÉDENTS

I. — LEVURES D'ALGÉRIE

1° DÉPARTEMENT D'ALGER.

- A) *Levures de Miliana.*
- B) *Levures de Margueritte.*
- C) *Levures de Médéah.*
- D) *Levures de Bouzaréah.*
- E) *Levures de Rouïba.*
- F) *Levures de Ténès.*
- G) *Levures de Tipaza.*
- H) *Levures de Port-Gueydon.*

2° DÉPARTEMENT D'ORAN.

- A) *Levures d'Oran.*
- B) *Levures de Sidi-Chami.*
- C) *Levures de Mascara.*
- D) *Levures de Rivoli.*
- E) *Levures de Tlemcen et de Tlemcen-Mansourah.*

3° DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE.

- A) *Levures de Gueulat-bou-Sba.*
- B) *Levures d'Héliopolis.*
- C) *Levures de Souk-Arhas.*

II. — LEVURES ÉTRANGÈRES

- 1° LEVURES DE SICILE.
- 2° LEVURES D'ESPAGNE.
- 3° LEVURES DE MADÈRE.
- 4° LEVURES DE PORTUGAL.

III

ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE DES LEVURES PROVENANT
DE L'ÉTUDE PRÉCÉDENTE

- 1° *Résistance à la chaleur.*
- 2° *Nature de l'acidité volatile.*
- 3° *Nature des sucres susceptibles de fermenter sous l'action des levures.*
- 4° *Sporulation des levures.*
- 5° *Aspect des colonies géantes et caractères divers.*

IV

RELATION ENTRE LES CARACTÈRES DES LEVURES ALGÉRIENNES
ET LES CARACTÈRES DE LEUR MILIEU HABITUEL

- 1° *Composition chimique azotée des moûts algériens.*
- 2° *Résistance à la lumière solaire des levures algériennes.*

V

ESSAI DE CLASSIFICATION DES LEVURES ALGÉRIENNES ;
DESCRIPTION DES VARIÉTÉS PRINCIPALES ;
COMPARAISON DES LEVURES ALGÉRIENNES
ET DES LEVURES ÉTRANGÈRES

VI

FIXITÉ RELATIVE DES CARACTÈRES DES LEVURES
CONSERVÉES DANS LE LABORATOIRE

VII

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

CHAPITRE PREMIER

PRÉLÈVEMENT ET ISOLEMENT DES LEVURES

1^o PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Pour les levures d'Algérie j'ai procédé moi-même à ces prélèvements à quelques très rares exceptions près. Dans ce cas la technique employée a été la suivante :

Dans un champ complanté de préférence d'une seule espèce de cépage on choisit une grappe saine sur un plan sain. Le pédoncule est saisi entre les mors d'une pince à crans préalablement flambée ; les feuilles avoisinantes sont coupées lorsqu'elles gênent l'opération ; un sac en papier flambé est largement ouvert autour de la grappe qui est détachée ensuite d'un coup de ciseaux flambés, l'emballage et le transport se font en entourant le sac de poudre de liège qui par mesure de précaution a été stérilisée à l'anhydride sulfureux.

Au laboratoire, les grappes sont retirées avec les mêmes précautions d'asepsie : les grains et le bois lui-même sont détachés et divisés au moyen de ciseaux stériles ; le tout est écrasé au mortier de verre flambé puis transvasé dans un ballon stérile et mis à l'étuve à 25° en agitant très fréquemment pour éviter autant que possible l'émersion des parties solides et l'apparition des moisissures en surface.

La fermentation une fois déclarée dans ce liquide, on en prélève quelques gouttes pour ensemençer un tube de jus de raisin stérile de même cépage et de même provenance que la

grappe ; c'est ce tube de culture qui sert de point de départ pour l'opération suivante, c'est-à-dire pour l'isolement.

Cette méthode n'est utilisable que pour les prélèvements dans des localités assez rapprochées du laboratoire pour ne pas occasionner à la grappe un trop long voyage. Pour les distances plus grandes et pour les localités prohibées par la réglementation phylloxérique, le foulage et la mise en fermentation de la grappe doivent avoir lieu sur place. Le liquide en activité sert ensuite à ensemencer un tube de moût stérile qui après avoir achevé sa fermentation à son tour peut subir le transport au lieu d'étude.

Pour les levures de régions très éloignées et lorsque l'on n'attache pas trop d'importance à l'identité du cépage, on peut avoir recours à une méthode excellente qui est la suivante :

On prépare au laboratoire de petits tubes en verre, fermés à une extrémité, de 6 centimètres de long environ et de 6 à 8 millimètres de diamètre intérieur. On introduit dans le tube une bande de papier-filtre ayant 4 centimètres de long environ et une largeur suffisante pour être maintenue fixe entre les parois du tube tout en restant facile à extraire et à introduire. Une petite bourre de coton s'arrêtant un peu en deçà du papier obture le tube. Ces tubes sont alors passés au four à flamber et expédiés aux lieux de prélèvement, accompagnés d'une pince fine.

Lorsqu'il s'agit de prélever un échantillon de levure, il suffit de retirer la bande de papier au moyen de la pince flambée, de la plonger un instant dans une cuve en fermentation et de la replacer après égouttage dans son tube qui, rebouché, est expédié de suite au lieu d'étude. Dans ces conditions la dessiccation de la bande est suffisamment rapide pour que les moisissures ne cultivent pas dans le cas où il y aurait eu contamination. Les levures sporulent, résistent longtemps et peuvent supporter les plus longs voyages.

A l'arrivée, la petite bande de papier est saisie avec une pince stérile et placée dans un tube de jus de raisin stérile.

La fermentation se déclare très vite dans ce liquide qui sert de point de départ aux isolements.

Sur 38 échantillons qui me sont parvenus de cette façon, 2 seulement n'ont donné aucun résultat, le tube de moût n'étant pas entré en fermentation. Tous les autres m'ont donné de nombreuses levures parmi lesquelles certaines se sont révélées comme très actives.

2^o ISOLEMENT

Quels que soient les procédés employés au prélèvement des levures brutes, elles ont toujours été soumises aux mêmes méthodes d'isolement. J'ai eu recours à la méthode des milieux solides : jus de raisin ou eau de touraillon sucrée, solidifiés par la gélose, de préférence à la gélatine, afin de pouvoir exposer les cultures à l'étuve et favoriser le développement des levures poussant à 30° puisqu'il s'agissait plus particulièrement de levures de régions chaudes.

A cet effet, on prélève une ou deux gouttes de culture de levure brute encore active, mais assez avancée toutefois pour obtenir une majorité de levures alcooliques robustes.

Ces deux gouttes de liquide sont diluées dans 100 cc. environ d'un mélange stérile d'eau et d'alcool, de façon à obtenir un liquide titrant environ 20°, selon les indications données par M. Descoffres [9] dans sa thèse sur les levures œnogènes des Charentes. Le tout étant contenu dans un petit matras à l'émeri et stérile, on agite fortement pendant quelques instants pour détruire, grâce à la double action du liquide alcoolisé et de l'agitation, l'adhérence qui peut exister entre les globules de levures.

Une goutte de ce liquide est alors portée dans une boîte de Roux contenant du jus de raisin ou du bouillon de touraillons sucré et stérile. Une agitation de quelques instants permet aux microorganismes de se répartir régulièrement dans toute la masse du liquide.

A ce moment, on verse dans la même boîte de Roux un volume de gélose double à l'eau, égal au volume du liquide qui y est déjà contenu. Cette gélose est maintenue assez tiède pour rester fluide. Une légère agitation permet aux deux liquides de se mélanger intimement et on laisse la coagulation se faire à plat sur l'une des faces de la boîte.

Grâce à ces perfectionnements de détails la méthode d'isolement en milieu solide donne pour les levures des résultats rapides et certains. En effet, il faut veiller avec la plus grande attention à ce que les colonies qui se développent aient bien pour origine une cellule unique. Certaines cellules présentant une assez grande adhérence, peuvent rester accolées et donner deux colonies qui se confondent et dont l'ensemble ne représente peut-être pas une variété unique de levure. C'est pour détruire cette adhérence que l'on a recours à l'agitation en milieu hydro-alcoolique et que la gélose n'est ajoutée à la culture qu'après nouvelle agitation dans le moût liquide.

D'ailleurs, le microscope intervient ici comme moyen de contrôle et, dès que la mise en boîte de Roux est terminée, on examine au microscope plusieurs gouttes du liquide où les levures sont en dilution hydro-alcoolique. Les quelques cellules que l'on rencontre doivent être toutes bien isolées les unes des autres. Dans le cas contraire, la boîte de Roux est à rejeter et l'opération à recommencer.

Les cultures en milieu solide, une fois reconnues bonnes sont maintenues à l'étuve jusqu'à développement suffisant des colonies.

On repère un certain nombre de ces colonies en tenant compte des différences d'aspect que certaines peuvent présenter entre elles. Chacune de ces colonies repérée sert alors à un double ensemencement : l'un sur liquide neutre saccharosé, l'autre sur jus de raisin ayant, de préférence, la même origine que la levure.

Cette pratique a pour but de distinguer de suite les levures qui font fermenter le saccharose de celles qui se développent dans ce milieu sans le faire fermenter ou en ne le faisant fer-

menter que très lentement, et qui ne présentent une activité normale qu'en présence de sucres en C⁶. Ces dernières levures se sont présentées assez fréquemment sur les cépages d'Algérie.

L'isolement terminé, un second contrôle microscopique intervient pour s'assurer de la pureté de la culture.

CHAPITRE II

SÉLECTION ET ÉTUDE DES LEVURES PURES

Cette partie du travail a permis de déterminer un certain nombre des caractères présentés par les ferments alcooliques des pays chauds, et en même temps de diminuer le nombre des levures pures à conserver en sélectionnant parmi elles les mieux adaptées à ces régions.

A. — PREMIÈRE SÉLECTION

Une première sélection a été effectuée au moyen des opérations suivantes :

- 1^o Aspect macroscopique des cultures en milieu liquide ;
- 2^o Aspect microscopique des levures ;
- 3^o Essai de fermentation à 35° ;
- 4^o Essais de fermentation dans des milieux d'acidité croissante.

1^o *Aspect de la culture en milieu liquide.* — J'ai noté la forme du dépôt, homogène, granuleux ou floconneux ; son adhérence plus ou moins grande au fond du tube, le dépôt ou non des levures le long des parois du tube, la formation plus ou moins rapide ou l'absence de voile en anneau sur la culture liquide. Enfin j'ai noté aussi la façon dont se comporte le dépôt de levure sous le fil de platine selon qu'il est facile à

prendre dans la boucle du fil ou au contraire, qu'il fuit sous le fil ne laissant qu'une gouttelette de liquide dans la boucle.

2° *Examen microscopique des levures.* — Cet examen a été fait en culture jeune non pas dans le but d'une étude morphologique définitive, mais uniquement pour noter les ressemblances et les différences essentielles que peuvent présenter ces levures entre elles.

3° *Essai de fermentation à 35°.* — J'ai ensemencé les diverses levures dans de petits ballons contenant du jus de raisin stérile. Ils ont été placés à l'étuve à 35° et j'ai noté le départ de fermentation plus ou moins rapide et, par comparaison avec un témoin, la quantité de sucre plus ou moins grande qui a été consommée au bout de 10 jours.

4° *Essais de fermentation dans des milieux d'acidité croissante.* — J'ai ensemencé les diverses levures dans des milieux contenant des doses croissantes d'acide tartrique, et noté la rapidité plus ou moins grande du développement des levures dans ces conditions.

Cet ensemble d'expériences constitue un faisceau d'indications suffisantes pour qu'on puisse retenir entre les différentes cultures ayant le même cépage et la même localité comme origine, le plus souvent une seule levure, parfois deux, rarement trois, qui représentent : soit la levure la plus commune parmi celles de même origine, ou bien la levure qui possède les caractères les plus particuliers, ou bien encore la levure qui présente la plus grande résistance aux divers éléments et, par conséquent, la meilleure adaptation aux fermentations en pays chauds.

Sans donner les résultats détaillés de ces opérations, le résultat général de cette première sélection a été l'élimination de certaines levures de résistance insuffisante, et la conservation pour chaque cépage ou région considérés d'un

parfois deux échantillons dont la sélection et l'étude ont été poursuivies.

B. — SECONDE SÉLECTION

Sur les levures ainsi choisies, j'ai procédé alors à une seconde sélection et à la détermination des caractères de ces levures. Dans ce but, après les avoir groupées par localité d'origine, j'ai procédé aux essais suivants :

- 1° Résistance à l'acidité ;
- 2° Résistance à l'alcool ;
- 3° Essais de fermentation à température élevée ;
- 4° Etude chimique des fermentations données par les diverses levures.

Je donnerai d'abord quelques détails sur la manière dont ces essais ont été effectués, puis je ferai connaître les résultats qu'ils m'ont donnés.

DESCRIPTION DES ESSAIS EFFECTUÉS

1° *Résistance à l'acidité.* — Les opérations effectuées lors de la première sélection ont déjà donné certains renseignements à ce sujet. Les levures conservées ont été choisies le plus souvent parmi celles effectuant un départ de fermentation dans un temps relativement assez court dans des milieux d'acidité tartrique comprise entre 0,50 et 3 0/0.

J'ai préparé de petits tubes à essais, tous de même dimension (10 centimètres de long et 1 centimètre de diamètre) afin d'opérer toujours dans les mêmes conditions et que le liquide placé dans ces tubes offre la même surface d'évaporation pendant la stérilisation à l'autoclave.

Chacun de ces tubes reçoit le même volume (5 centimètres cubes) d'eau de touraillon sucrée à 5 0/0 et dont l'acidité a été amenée exactement au moyen de l'acide tartrique à :

1 0/0 — 1 $\frac{1}{2}$ 0/0 — 2 0/0 — 2 $\frac{1}{2}$ 0/0 — 3 0/0 et 3 $\frac{1}{2}$ 0/0.

Après stérilisation, ces six tubes sont ensemencés à l'aide d'une culture très jeune, en pleine activité, de la levure que l'on veut essayer, au moyen d'un fil de platine fin qui présente à son extrémité une boucle de 1 millimètre de diamètre.

On note :

L'acidité des tubes où la fermentation se déclare et le nombre d'heures qui a été nécessaire à ce départ de fermentation.

Au point de vue pratique, cette expérience ne donne pas d'indications très importantes, car la vigueur d'une levure, c'est-à-dire sa résistance à d'autres éléments tels que l'alcool, et la rapidité de sa fermentation ne sont pas toujours proportionnelles à cette résistance à l'acidité.

Mais ce caractère a une importance théorique en ce qu'il fixe une propriété intéressante de la levure, permettant parfois de la définir et en tout cas d'établir une comparaison avec ses congénères.

C'est surtout à ce titre que cette méthode est employée couramment dans la technique de sélection des levures.

2^e Résistance à l'alcool. — La détermination de ce caractère des plus importants peut se faire d'une façon très simple en mettant en présence de la levure à étudier un moût très riche en sucre et en dosant l'alcool lorsque cette fermentation est terminée.

Toutefois, j'ai adopté certains détails de technique qui m'ont permis d'opérer toujours dans les mêmes conditions et d'obtenir une détermination plus précise du pouvoir alcooligène.

En effet, lorsqu'on opère dans un ballon, le large contact du liquide avec l'air permet l'évaporation d'une partie de l'alcool surtout aux températures de l'étuve. Pour suivre la marche de l'opération, on doit prélever chaque jour une partie du liquide pour y doser soit l'alcool produit, soit le sucre restant, ce qui oblige à opérer sur des volumes assez grands et amène le risque de contamination ou de trouble dans la fermentation.

Pour éviter tous ces inconvénients, j'effectue cette opération dans de grands tubes de verre de 32 millimètres de diamètre intérieur et 45 centimètres de long. Ces tubes peuvent contenir facilement 200 cc. de jus de raisin qui a été enrichi par concentration ou par addition de sucre interverti jusqu'à présenter une richesse en sucre susceptible de donner par fermentation 20° d'alcool environ. Chaque tube reçoit un densimètre gradué depuis 990 jusqu'à 1.140 et, après stérilisation, est ensemencé avec la levure à étudier. Chaque jour on note la densité du liquide, ce qui permet d'établir une courbe de la fermentation ; lorsque l'opération est terminée, le volume de liquide que l'on retire du tube à mustimètre est suffisant pour le dosage de l'alcool par distillation et emploi de l'alcoomètre légal au 1/10 de degré (*fig. 11*).

L'emploi du densimètre ne constitue évidemment qu'une méthode approximative, mais ces lectures densimétriques constituent une indication sur la régularité plus ou moins grande de la fermentation. Le densimètre indique surtout le moment où la fermentation est terminée et le résultat définitif de l'expérience (degré alcoolique maximum donné par le ferment) est donné par une détermination précise.

Le procédé présente d'ailleurs de nombreux avantages. La surface de liquide offerte à l'évaporation est très faible et diminue donc le risque de perte en alcool.

L'emploi d'une batterie de 3 ou 4 douzaines de tubes à densimètres semblables permet d'entreprendre un très grand nombre d'expériences comparatives que la longueur des autres méthodes permettrait difficilement de réaliser, et ce dispositif très simple permet d'appliquer au plus grand nombre de levures les variations les plus nombreuses des conditions d'expérience, et d'établir une série de courbes de fermentations comparées qui par leur multiplicité permet souvent de tirer des conclusions intéressantes.

3° *Essais de fermentation à température élevée.* — C'est l'étude d'une des formes de résistance de la levure à la cha-

leur; mais les conditions de l'expérience diffèrent de celles que l'on applique à la détermination de la résistance réelle de la levure à la chaleur. Dans ce dernier, cas que nous étudierons plus loin, on soumet la cellule, soit sous sa forme normale, soit sous la forme sporulée, à la seule action de températures de plus en plus élevées, en la soustrayant, d'autre part, autant que possible, à l'action d'autres agents.

Ici, au contraire, la cellule est soumise non seulement à une température relativement haute, mais encore à l'action inhibitrice de son produit d'élaboration, l'alcool.

L'expérience est réalisée en ensemençant les diverses levures à étudier dans de petits matras contenant 50 cc. environ d'un moût sucré. Deux ballons identiques sont placés dans les mêmes conditions d'expérience sans avoir été ensemençés, c'est-à-dire à titre de témoins. Sitôt après ensemençement, les matras sont placés à l'étuve réglée à $38^{\circ} 1/2$. A ce point, on reconnaît que le fonctionnement de la levure se ralentit d'une façon considérable. En fait, ces températures ne suffisent pas pour empêcher la fermentation de se déclarer. La levure n'est en effet détruite qu'à des températures beaucoup plus hautes, comme l'ont démontré plusieurs auteurs (52). Aussi, le plus souvent, les matras ainsi ensemençés et chauffés deviennent le siège d'un début très actif de fermentation. Mais à ces températures, la résistance à l'alcool de la levure est diminuée; il en résulte qu'à partir d'une certaine limite de consommation de sucre la fermentation se ralentit, puis cesse. Cette épreuve est donc plus justement définie par : *le degré alcoolique maximum produit à 38°* .

Au bout de dix jours de séjour à l'étuve, on évalue le terme atteint par la fermentation, en effectuant le dosage du sucre restant : d'une part dans le ballon témoin, d'autre part dans chacun des matras ensemençés.

Ces dosages de sucre devant porter parfois sur un assez grand nombre de matras et devant être effectués autant que possible au même moment afin de donner des résultats comparables, j'ai eu recours à la méthode de Bonnans qui est

assez rapide tout en donnant des résultats suffisamment exacts.

Cette expérience permet non seulement la comparaison des levures entre elles, mais donne également des résultats utiles dans la pratique. Il est en effet indispensable d'avoir recours pour les vinifications en pays chauds à des ferments susceptibles de supporter des températures relativement élevées sans être détruits, et même sans que leur fonctionnement normal soit trop sensiblement diminué.

Cette température élevée des fermentations a toujours été en effet l'obstacle le plus difficile à surmonter. Les moyens dont on dispose pour y remédier sont très limités et parfois d'une application assez difficile. Aussi, tout en abaissant la température de certaines cuvaisons, il n'est pas pratiquement possible de l'amener à des degrés bas et seules, les levures particulièrement résistantes à la fois à l'alcool et à la chaleur, sont capables de terminer complètement ces fermentations.

4° *Etude chimique des fermentations effectuées par les diverses levures.* — Pour procéder à l'étude chimique complète des fermentations données par les diverses levures, il aurait été nécessaire de faire fermenter, par chacune de ces levures, dans les mêmes conditions, un assez grand volume du même jus de raisin, dont la composition chimique, sous le rapport du sucre, de l'acidité et des matières azotées, aurait été rigoureusement déterminée au préalable; il aurait fallu ensuite recueillir et doser l'acide carbonique dégagé par chaque fermentation, et enfin établir, une fois la fermentation terminée, la composition chimique du liquide fermenté en y dosant l'alcool, le sucre restant, la glycérine, les acidités totale et volatile, les matières azotées sous leurs diverses formes, l'acide succinique, les alcools supérieurs et le poids de levure formée. On sait bien aujourd'hui que beaucoup de ces produits, notamment l'acide succinique, les alcools supérieurs et les acides volatils proviennent non pas du sucre, mais des corps qui servent à l'alimentation azotée du ferment alcoolique; cependant les

variations de ces produits n'en font pas moins partie du phénomène ; leur proportion peut-être variable avec les diverses levures et leur recherche devrait donc avoir sa place dans une étude chimique complète des fermentations données par les diverses levures isolées.

Mais une telle étude, pour être comparative, devrait se faire à la fois sur toutes les levures, dans le même milieu et dans les mêmes conditions. On comprend que l'établissement simultané, pour une centaine de levures, de ces bilans de fermentation, exigerait un matériel considérable, un temps très long et nécessiterait une quantité énorme de dosages qui cependant ne peuvent être que peu nombreux à cause de leur importance même. J'ai dû renoncer à réaliser cette étude complète pour chacune des levures isolées, mais j'ai fait cependant une tentative dans cette voie sur une des levures que j'ai sélectionnées.

Dans une grande allonge cylindrique de forme haute et étroite contenant dix litres environ et munies de diverses tubulures j'ai placé la plus grande quantité possible du milieu de culture (jus de raisin) (1) parfaitement limpide après stérilisation.

Une partie de ce liquide a été préalablement soutirée aseptiquement de façon à déterminer sa composition chimique au point de vue de la teneur en sucre, en acidité et en azote sous ses formes principales.

Le liquide restant dans l'allonge, représentant 6 litres 386 cc. c'est-à-dire occupant sensiblement les $\frac{2}{3}$ du volume total du récipient, a étéensemencé à l'aide d'une trace de levure.

Au cours de la fermentation l'anhydride carbonique a été recueilli, après dessiccation sur l'acide sulfurique, dans une série de cinq ballons de potasse, dont les tubes abducteurs étaient munis d'une soupape afin d'éviter les retours de liquide par absorption.

(1) Ce milieu de culture a été constitué par un mélange de jus provenant de raisins de Carigan, Mourvèdre, Aramon et Cinsault des trois départements algériens.

Les dernières parties d'anhydride carbonique ont été recueillies : 1° dans l'atmosphère de l'allonge par un lent balayage à l'aide d'air purifié ; 2° dans une partie aliquote du liquide, par le vidé, puis absorption par la potasse.

Le liquide fermenté a été enfin analysé sous le rapport de ses principaux éléments.

Les résultats de cette expérience sont les suivants :

Les 6 litres 386 de liquide à 177 gr. 65 de sucres réducteurs par litre ont dégagé en totalité 529 gr. 40 d'anhydride carbonique. La nature et la quantité des éléments principaux, avant et après fermentation, peuvent se résumer ainsi :

	En grammes par litre	
	avant fermentation	après fermentation
Sucre	177 gr. 65	3 gr. 35
Alcool produit		84 gr. 98
Anhydride carbonique. . .		82 gr. 89
Glycérine		4 gr. 20
Levure.		1 gr. 34
Acidité totale (en SO^4H^2) . .	3 gr. 846	5 gr. 047
— fixe —		4 gr. 606
— volatile (en $\text{CH}^3\text{CO}^2\text{H}$)(1)	0 gr. 357	0 gr. 540
Azote total (du liquide). . .		0 gr. 266
— protéique (Stutzer) . .		» »
— ammoniacal		0 gr. 033
— amidé		0 gr. 233
— de la levure		0 gr. 088
Acide succinique		0 gr. 287
Alcools supérieurs (détermination qualitative, méthode de Duclaux) . . .		traces

Cette expérience nous donne une idée des phénomènes qui se sont produits dans cette fermentation alcoolique. On voit que la levure a fait fermenter la presque totalité du sucre et qu'elle a utilisé 174 gr. 30 de sucre pour donner 10°7 d'alcool dans le liquide. Le rapport du sucre consommé à l'alcool pro-

(1) L'acide volatil produit a été de l'acide acétique (Méthode de la distillation fractionnée de Duclaux).

duit est donc $\frac{174,3}{10,7} = 16,29$, c'est-à-dire que dans les conditions de cette expérience la levure a consommé 16 gr. 29 de sucre réducteur pour donner 1° d'alcool.

Le pouvoir ferment a été de $\frac{174,3}{1,34} = 130$, c'est-à-dire qu'un gramme de levure a décomposé 130 grammes de sucre. Cette levure a donc un pouvoir ferment élevé.

La quantité de glycérine produite pour 100 grammes de sucre consommé a été de $\frac{4,2 \times 100}{174,3} = 2$ gr. 41. Ce chiffre est faible et cette levure donne peu de glycérine. Le chiffre de l'acide succinique est également très faible.

L'acidité fixe a augmenté de 0 gr. 76 par litre (29-30). L'acidité volatile, constituée par de l'acide acétique, a atteint 0 gr. 54 par litre, ce qui est un chiffre normal. La levure a consommé pour son alimentation une quantité d'azote qui représente 25,5 o/o de l'azote initial du moût. Cette diminution a porté surtout sur l'azote dégradé. Le moût initial ne renfermait d'ailleurs pas d'azote précipitable par l'hydrate de protoxyde de cuivre, très probablement par suite de l'hydrolyse de ces matières lors des stérilisations successives en milieu acide. Cette question de l'azote des moûts sera d'ailleurs étudiée plus loin dans un chapitre spécial.

Enfin j'ai pu constater la présence d'alcools supérieurs, par la méthode du compte-gouttes de Duclaux, mais le volume de liquide dont je disposais ne m'a pas permis d'en faire le dosage. On sait d'ailleurs, depuis les travaux d'Ehrlich, que ces alcools se forment, dans les fermentations alcooliques pures, par action de la levure sur certains acides aminés.

Il était intéressant de chercher, dans cette expérience, à faire en quelque sorte le bilan du sucre disparu qui, d'après les théories modernes de la fermentation alcoolique, donne naissance à de l'acide carbonique, de l'alcool, de la glycérine et de la levure. 174 gr. 30 de sucre réducteur ont donné :

Alcool	84 gr. 98
Acide carbonique . .	82 gr. 89
Glycérine	4 gr. 20
Levure.	<u>1 gr. 34</u>
Total.	173 gr. 41

En réalité ce chiffre doit être un peu plus faible car nous ne devrions compter que la matière hydrocarbonée de la levure et laisser de côté son azote. Quoi qu'il en soit, nous trouvons un déficit d'environ 1 gramme sur 174 gr. 3, soit 0,6 o/o : ce déficit s'explique aisément, d'une part, par les légères pertes d'alcool et d'acide carbonique au cours de l'expérience et aussi, par l'incertitude qui règne sur le poids réel de la levure formée. L'établissement d'un bilan rigoureux de la fermentation alcoolique exigerait des précautions expérimentales beaucoup plus grandes et serait d'ailleurs en dehors de notre sujet, notre but étant de comparer entre elles les fermentations alcooliques de diverses levures sans en aborder le mécanisme physiologique proprement dit.

Comme je l'ai exposé plus haut, cette étude chimique complète de la fermentation alcoolique d'une centaine de levures était irréalisable ; je me suis donc borné à faire, pour toutes mes levures, une étude chimique plus simple en ne dosant avant et après fermentation que les substances principales relatives à la transformation du sucre et les principaux éléments d'appréciation choisis ont été le sucre disparu et l'alcool produit.

Le choix de ces deux éléments a été fait, principalement à cause de la précision avec laquelle on peut les déterminer quantitativement puis, pour l'importance industrielle que représentent le sucre récolté et l'alcool obtenu à ses dépens. Le rapport entre ces deux éléments a été exprimé par la quantité de sucre en poids nécessaire pour l'obtention d'un degré d'alcool en volume.

Cette étude chimique préliminaire consiste donc à ensemer les levures dans un milieu sucré dont on détermine la

composition chimique au point de vue des principaux éléments avant et après la fermentation.

Les éléments dosés ont été les suivants :

1° Quantité de sucre fermentescible contenu dans le milieu avant la fermentation :

2° Acidité du moût avant la fermentation ; la quantité de ces deux premiers éléments ne variant que par suite d'une concentration plus ou moins grande du milieu de culture à la suite des stérilisations nécessaires à sa conservation ;

3° Acidité totale que présente le liquide après fermentation ;

4° Acidité fixe du liquide après fermentation ;

5° Acidité volatile du liquide fermenté ;

6° Sucre restant après fermentation ;

7° La quantité d'alcool formée après fermentation, exprimée en volumes p. 100 à 15°C. ;

8° Extrait sec à 100°, moins le sucre ;

9° Dans certains cas, le poids de levure formée permettant d'évaluer le pouvoir ferment ;

Les procédés d'analyse employés peuvent être résumés de la façon suivante :

1° *Quantité de sucre du milieu avant la fermentation.* — Il est préférable d'employer pour cette détermination le mode de dosage le plus précis. On a donc recours à la méthode de Bertrand.

2° *Acidité du milieu avant fermentation.* — Cette détermination est faite sur 10 cc. que l'on traite, après dilution avec 100 cc. d'eau distillée, par la solution de NaOH N/10 en présence de la phénolphthaléine comme réactif indicateur.

3° *Acidité totale du milieu après fermentation.* — Cette détermination est faite dans les mêmes conditions que la précédente.

4° *Acidité fixe du milieu après fermentation.* — 10 cc. de

liquide sont placés dans une capsule de verre à fond plat de 7 centimètres de diamètre, et évaporés complètement au bain-marie à 100°. Le résidu sec est ensuite redissout dans 100 cc. d'eau distillée tiède. On procède alors au titrage de l'acidité dans les mêmes conditions que précédemment. La détermination de ces deux derniers éléments a été faite plutôt comme moyen de contrôle de l'acidité volatile.

5° *Acidité volatile produite.* — Ce dosage, très important, car il différencie certaines levures entre elles, a été fait par la méthode de Duclaux (17), qui m'a donné les résultats concordant le mieux avec la différence entre l'acidité totale et l'acidité fixe du milieu après fermentation.

6° *Dosage du sucre non fermenté à la fin de l'opération.* — Ce dosage a été effectué par la même méthode que le dosage du sucre avant la fermentation, c'est-à-dire par le procédé de Bertrand. Mais, dans la plupart des cas, il n'y a pas eu lieu de diluer autrement que pour la défécation puisqu'il s'agissait en général de solutions sucrées ne dépassant pas 5 grammes par litre. Pour éviter l'action des corps réducteurs contenus dans le liquide fermenté il convient d'évaporer partiellement ce liquide au bain-marie jusqu'à réduction au 1/2 environ, puis, de déféquer avec la plus faible quantité possible de sous-acétate de plomb suivie d'un léger excès de solution saturée de carbonate de soude. Le liquide ramené à un volume connu au moyen de l'eau distillée, est filtré, puis traité par la solution cupro-potassique.

7° *Dosage de l'alcool formé.* — Ce dosage a été fait par distillation. 200 cc. du liquide fermenté, décanté et ramené à 15°, ont été neutralisés à la soude et distillés jusqu'à obtention de 150 cc. environ. Le produit distillé a été ramené à 200 cc. à 15° et le degré alcoolique a été pris à l'alcoomètre au 1/20 de degré.

8° *Extrait sec à 100°.* — L'extrait sec a été obtenu par l'éva-

poration de 20 cc. de liquide fermenté et limpide pendant 6 heures au bain-marie, dans une capsule de verre de 7 centimètres de diamètre. Après refroidissement dans l'exsiccateur, le résidu est pesé.

9° *Poids de levure fournie.* — Le poids de levure a été obtenu par centrifugation ou bien en décantant soigneusement la plus grande partie du liquide fermenté; puis, après une seconde décantation dans un flacon stérile de petit volume, on verse le résidu trouble sur un filtre sans plis, à grain très serré, mouillé à l'eau bouillante et, au préalable, lavé, séché à 80° et taré. Le dépôt de levure recueilli est lavé, séché à 80° et pesé.

J'ai déduit de ces divers chiffres :

a) Le sucre consommé pendant la fermentation, par différence entre le sucre initial et le sucre restant.

b) Le rapport entre le sucre consommé et l'alcool produit, en divisant la quantité de sucre consommé par la levure pour 1.000 cc. de liquide par la quantité p. 100 d'alcool en volumes contenu dans ce liquide après fermentation; le chiffre ainsi obtenu représente la quantité de sucre employée par la levure, dans les conditions de l'expérience, pour produire 1° d'alcool tel que le degré alcoolique est exprimé en France.

c) Le pouvoir ferment, c'est-à-dire la quantité de sucre décomposé par 1 gramme de levure produite, dans les conditions de l'expérience.

d) Le non-sucre de l'extrait sec, c'est-à-dire l'extrait sec diminué du sucre.

Les résultats obtenus dans ces divers essais : résistance à l'acidité, résistance à l'alcool, essai de fermentation à 38° et étude chimique préliminaire sont réunis dans les tableaux (p. 32 et 33), où les levures sont groupées par régions.

RÉSULTATS FOURNIS PAR LES ESSAIS PRÉCÉDENTS

I. — Levures d'Algérie

1^o DÉPARTEMENT D'ALGER

a) *Levures de Miliana.* — Les levures de cette région proviennent : 1^o d'une lie rouge recueillie en 1905.

2^o De raisins frais cueillis sur les cépages suivants : Aïn Kelb, Alicante, Cabernet, Cinsault, Ferhana, Valensi, Mourvèdre.

J'ai isolé de ces lies et cépages neuf levures qui ont été étudiées aux divers points de vue énumérés dans le chapitre précédent.

J'ai pu constater : que toutes ces levures présentent une grande résistance à l'acidité. Pour presque toutes, en effet, le départ de la fermentation se déclare à peu près simultanément dans des moûts à 1, 1 $\frac{1}{2}$, 2, 2 $\frac{1}{2}$, 3 et même 3 $\frac{1}{2}$ o/o d'acidité tartrique. Les organismes recueillis sur les plants de Mourvèdre ont même donné des fermentations actives dans des moûts à 4 et 5 o/o d'acide tartrique avec une production d'alcool de 4°2 à 4°6.

Sous le rapport du pouvoir alcoogène à 25°, j'ai pu constater que la résistance de ces levures à l'alcool est élevée, le degré alcoolique variant de 10°1 à 14°8, sauf pour les organismes provenant du Mourvèdre qui ne donnent que 4°6 et 5° d'alcool.

Sous le rapport de la consommation du sucre à 38° les levures se sont montrées très différentes, certaines n'ont rien consommé, d'autres ont consommé plus de la moitié du sucre présent.

L'action des levures sur le milieu de culture a été sensiblement la même, sauf pour les organismes du Mourvèdre qui se distinguent des autres par une forte acidité volatile produite et un coefficient très élevé d'utilisation du sucre.

L'ensemble de ces différentes épreuves indique qu'il y a

lieu de retenir en vue d'une étude plus complète les levures suivantes :

Lie 1905 : à cause de sa résistance à l'alcool.

Alicante : à cause de sa résistance à l'alcool et de l'ensemble des résultats de son étude chimique préliminaire.

Cabernet : à cause de sa résistance à l'acidité.

Valensi : à cause de sa résistance à la chaleur.

Les levures provenant du Mourvèdre : à cause de leurs caractères différents de ceux qu'offrent les levures provenant de la même région.

b) *Levures de la région de Margueritte.* — Il faut rapprocher de la région de Miliana la localité de Margueritte qui lui est voisine et de situation climatérique semblable. Les recherches ont porté sur des levures isolées dans les jus de raisin provenant de plants de Carignan, de Cabernet et de Mourvèdre.

Comme leurs voisines de Miliana, ces levures offrent une résistance élevée à l'acidité; elles ont un pouvoir alcoogène élevé et certaines d'entre elles consomment à 38° de température des quantités importantes de sucre.

La mieux caractérisée à ces divers points de vue, est la levure de Carignan Margueritte dont les caractères sont résumés au tableau général et qui a été conservée en vue d'une étude plus complète.

c) *Levures de la région de Médéa.* — Les organismes provenant de cette région ont été isolés dans les jus provenant de plants d'Alicante, Cabernet, Carignan, Cinsault, Petite Syrah et Mourvèdre.

La levure isolée sur le plant d'Alicante de Médéa doit être mise à part à cause des caractères spéciaux qu'elle a présentés au moment de son isolement vis-à-vis du sucre interverti qu'elle fait fermenter tout en restant inactive vis-à-vis du saccharose.

Les autres levures ne présentent pas de très grandes diffé-

rences entre elles. Il ne semble pas qu'il y ait dans cette région la même diversité de levures que dans la région de Miliana qui peut lui être comparée.

Parmi elles je n'ai donc retenu que celle que j'ai isolée du plant de Carignan, à cause d'une légère supériorité au point de vue alcoogène et consommation du sucre à température élevée.

d) *Levures de la région de La Bouzaréah.* — Trois levures ont été étudiées provenant de plants d'Aramon, Clairette et Mourvèdre.

De l'ensemble des expériences, il résulte une certaine différence entre ces trois levures à l'avantage de celle isolée du plant d'Aramon. Le degré alcoolique atteint est, en effet, plus élevé. Le coefficient d'utilisation du sucre plus faible, c'est-à-dire meilleur. Elle résiste également à un degré assez élevé, à l'acidité et à la chaleur.

Ses caractères, résumés au tableau général p. 32 et 33, l'ont donc fait conserver en vue d'une étude plus complète.

e) *Levures de la région de Rouïba.* — Malgré l'importance de la région vinicole de Rouïba, les recherches sur les levures n'ont pu porter ici que sur les échantillons d'Aïn-Kelb, de Carignan et de Mourvèdre.

Les cultures provenant d'autres plants (Cinsault, Aramon, etc.) ont manqué deux années de suite, soit qu'elles n'aient donné lieu à aucune fermentation alcoolique, soit que les levures isolées aient subi une rapide atténuation au laboratoire.

La levure provenant du plant de Carignan présente une résistance à l'acidité moins grande que les deux autres levures. Sa résistance à l'alcool et sa consommation de sucre à 38° de température sont également plus faibles.

Dans les conditions réalisées dans les expériences précédentes la levure isolée du Carignan est manifestement différente des deux autres.

Cette différence a été déjà établie par suite du caractère particulier (que cette levure a présenté au moment de son isolement) de faire fermenter les milieux à base de sucre interverti et de rester inactive vis-à-vis des milieux saccharosés.

Les deux autres levures sont également à retenir à cause des caractères qui permettent leur utilisation industrielle. La levure du Mourvèdre présente, en effet, un coefficient normal d'utilisation du sucre et produit une acidité volatile relativement faible. Celle qui a été isolée de l'Aïn-Kelb est capable de consommer une proportion notable de sucre à des températures élevées.

f) *Levures de la région de Ténès.* — Les levures de cette localité étudiées au laboratoire proviennent des deux cépages Aramon et Cabernet.

Malgré un coefficient d'utilisation de sucre un peu plus élevé, la levure trouvée sur le Cabernet a été retenue en vue d'une étude plus complète à cause de l'atténuation plus forte qu'elle produit dans les moûts riches en sucre, et de sa plus grande consommation de sucre en présence des températures élevées.

g) *Levures de la région de Tipasa.* — Les levures étudiées dans cette région ont comme origine deux lies : l'une provenant de cépages rouges, l'autre de cépages blancs.

Ces deux levures, ensemencées à diverses reprises dans des moûts contenant un grand excès de sucre, ont toujours montré une consommation de sucre régulière et très active. La régularité de la fermentation est indiquée par la décroissance de la densité donnée quotidiennement par le mustimètre placé à demeure dans le tube.

Au bout de 25 jours le degré alcoolique atteint est de :

Lie rouge	15°6
Lie blanche	13°4

Ces deux levures ont été retenues pour en poursuivre l'étude

TABLEAU I. — Levures

	Nombre d'heures nécessaire au départ des fermentations en milieux d'acidité lactique égale à				Pouvoir alcoo- gène à 25°	Con- ma- du- a Tén- = 1 c
	1 o/o	2 o/o	3 o/o	3 1/2 o/o		
a) Levures de Miliana.	h.	h.	h	h.	degrés	gr.
Lie 1905 n° 1	29	48	270	»	14,8	6
Aramon n° 2	41	72	280	485	10,7	9
Alicante n° 3	41	41	210	480	13,9	0
Cabernet n° 4	49	72	140	314	12,2	9
Valensi n° 5	41	72	189	580	11,7	10
Mourvèdre n° 6	30	30	30	30	4,6	0
b) Région de Margueritte.						
Carignan (n° 13)	36	49	225	438	13,8	11
c) Région de Médéah.						
Alicante (n° 9).	35	77	101	270	5,1?	11
Carignan (n° 10)	24	74	144	363	12,7	2
d) Région de La Bouzaréah.						
Aramon (n° 8).	33	49	148	289	12,6	11
e) Région de Rouïba.						
Aïn Kelb (n° 14)	30	48	126	391	12,4	15
Carignan (n° 15)	36	78	270	»	10,2	6
Mourvèdre (n° 17).	36	78	126	300	13	13
f) Région de Ténès.						
Cabernet (n° 7).	20	20	167	»	13,8	12
g) Région de Tipasa.						
Lie Rouge (n° 11).	29	48	270	»	15,6	8
Lie Blanche (n° 12)	35	48	121	270	13,4	8
h) Région de Port Gueydon.						
Cinsault (n° 18)	24	47	191	318	8,48	6

rtement d'Alger

Etude chimique préliminaire							
Sucre o/oo			Alcool produit	Rapport <u>sucre</u> <u>alcool</u>	Non sucre de l'extrait o/o	Pouvoir ferment	Acidité volatile o/oo
initial	restant	consommé					
gr.	gr.	gr.	degrés		gr.		gr.
7,75	1,05	176,70	10,35	17,05	»	»	0,552
5,70	3,60	183,10	11,2	16,35	1,78	89	0,376
3,70	1,20	185,50	11,25	16,49	1,78	122	0,310
9,00	5,07	183,93	10,9	16,87	1,90	113	0,313
3,70	5,25	181,45	11,1	16,34	1,71	123	0,336
0,60	2,88	177,72	9,3	19,10?	»	»	1,320 ?
0,95	1,40	169,55	10,3	16,46	1,82	111	0,101
3,10	1,40	174,70	10,45	16,70	1,68	158	0,440
0,30	1,30	185,00	10,65	17,37	1,81	98	0,360
4,50	1,58	182,92	11,1	16,47	1,75	125	0,334
0,60	1,60	188,00	11,6	16,21	1,68	139	0,111
0,60	3,20	186,40	10,95	17,00	1,77	107	0,158
0,60	2,30	187,30	11,5	16,20	1,70	139	0,084
3,30	3,40	182,90	10,7	16,47	2,05	119	0,334
3,40	5,60	170,80	10,1	16,90	1,98	175	0,731
9,40	2,85	176,55	10,35	17,05	2,05	»	0,532
7,80	1,25	186,55	10,9	17,11	»	»	0,590

plus complètement et pour être soumises à l'emploi industriel. On a fréquemment besoin, en effet, dans les vinifications algériennes, d'une fermentation très rapide tout en étant régulière et capable d'être poussée en peu de temps jusqu'aux degrés alcooliques élevés. Ces deux levures sont bien désignées dans ce cas. Elles ont d'ailleurs été déjà employées en grand dans la grosse industrie vinique du pays. Dans ces expériences de grande pratique, elles ont montré les mêmes caractères que ceux indiqués dans les essais de laboratoire.

h) *Levures provenant de la région de Port-Gueydon.* — Dans la région de Port-Gueydon, intéressante parce que certains de ses vins sont à degré alcoolique élevé, plusieurs échantillons de divers cépages ont été recueillis; mais, des diverses levures, une seule, isolée sur Cinsault, a résisté aux traitements du laboratoire.

Les caractères de cette levure peuvent être résumés de la façon suivante :

La résistance à l'acidité est assez grande puisqu'elle se traduit par le départ de la fermentation en un nombre d'heures relativement court dans des milieux à acidité élevée.

Malgré sa provenance, cette levure, placée en présence d'un excès de sucre, n'effectue sa fermentation que d'une façon assez lente et paresseuse. En 30 jours la chute de densité est égale à 1.128 — 1.022, le degré alcoolique final est 8°8 à la température de 25°.

A une température élevée comprise entre 38°5 et 39°, cette levure a consommé 6 gr. 22 pour 100 cc. de sucre dans un moût en contenant au début 19 gr. pour 100.

Cette levure a été conservée en vue d'une étude plus complète. Ses caractères sont résumés comme pour les levures précédemment citées dans le tableau précédent.

2^o DÉPARTEMENT D'ORAN

Le nombre de levures sur lequel a porté l'étude des levures dans le département d'Oran est moins grand que celui du département d'Alger.

Cette différence provient, d'abord, de ce que le vignoble est moins étendu dans ce département que dans celui d'Alger, mais, surtout, des règlements de protection phylloxérique en pleine vigueur au moment des prélèvements.

La récolte a donc été réduite aux régions où j'ai pu séjourner moi-même quelque temps et, où certains collaborateurs dévoués ont pu surveiller la fermentation des cépages écrasés sur place, pour me faire ensuite parvenir au laboratoire d'Alger le matras de culture, seule forme de transport autorisée pour le produit de la vigne.

Des levures ont été ainsi étudiées provenant de : Oran, Sidi-Chami, Mascara, Rivoli, Tlemcen et Tlemcen-Man-sourah.

a) *Levure provenant de la région d'Oran.* — Les levures étudiées sont au nombre de 5 : 2 provenant de plans d'Aramon, les trois autres ayant eu comme origine des plants de Grenache, Carignan, Mourvèdre.

Ces diverses levures possèdent toutes une résistance marquée à l'acidité, puisqu'elles effectuent le départ de leur fermentation, en mout à 3 1/2 o/o d'acide tartrique, dans des temps relativement courts. Les deux dernières ont, à ce point de vue, une activité plus grande que les autres.

Parmi ces cinq levures, j'en ai retenu trois à des titres divers : 1^o La levure Aramon n^o 1 pour son pouvoir alcoogène plus élevé, sa consommation plus considérable de sucre à forte température ainsi que pour la faible proportion d'acidité volatile formée et le rapport S/A moyen.

Les deux autres : Carignan et Mourvèdre ont été conservées pour leur pouvoir alcoogène élevé et leur résistance à

l'acidité qui coïncident avec des coefficients d'utilisation du sucre assez éloignés du coefficient normal.

b) *Levures provenant de la région de Sidi-Chami.* — Les levures étudiées sont au nombre de quatre, elles ont été prélevées sur des plants de Grenache, Carignan, Cinsault et Mourvèdre.

Au point de vue de la résistance à l'acidité, la levure de Mourvèdre s'est nettement différenciée des autres par un départ de fermentation beaucoup plus rapide et s'effectuant dans des milieux d'acidité plus élevée.

Le pouvoir alcoogène à 25° est peu différent chez ces divers individus. Il semble un peu plus élevé pour la levure de Grenache. Leur pouvoir de consommation du sucre à 38° est faible. Ces levures ne présentent pas de caractères bien différents à ce sujet.

Dans les conditions d'expérience de l'étude chimique préliminaire, les levures étudiées présentent des caractères peu différents les unes des autres. Toutes offrent un coefficient d'utilisation du sucre élevé et s'éloignant sensiblement de l'équation normale. L'acidité volatile produite est élevée. La levure du Mourvèdre, toutefois, se différencie légèrement des autres par une production d'alcool légèrement plus élevée, pour une consommation de sucre à peu près égale. Son coefficient de transformation de sucre en alcool est un peu plus faible, de même que la quantité d'acidité volatile produite.

En résumé, pour la région de Sidi-Chami, deux levures ont été conservées en vue d'une étude plus complète.

1° La levure Grenache à cause de son pouvoir alcoogène et sa consommation de sucre à 38° plus élevés.

2° La levure de Mourvèdre à cause de sa meilleure utilisation du sucre et de sa plus faible production d'acidité volatile. Leurs caractères sont résumés dans le tableau n° 2 (p. 38).

c) *Levures provenant de la région de Mascara.* — Certaines

difficultés ne m'ont pas permis de recueillir autant de levures que demanderait cette région si intéressante au point de vue viticole. Aussi, mon étude s'est trouvée réduite à deux individus, qui ne représentent qu'une bien faible partie des levures de cette région.

Ils ont été prélevés sur des plants de Cinsault et de Ferhana.

Ces deux individus se différencient très nettement l'un de l'autre à tous les points de vue. La levure Ferhana offre une résistance à l'acidité plus grande, un pouvoir alcoogène plus élevé, un coefficient d'utilisation du sucre plus bas et une production d'acidité volatile plus réduite que la levure Cinsault. C'est pour ces diverses raisons qu'elle a été seule conservée, en vue d'une étude plus approfondie.

d) *Levures provenant de la région de Rivoli.* — Dans cette région, j'ai pu me procurer des levures provenant de trois plants différents : Aïn-Kelb, Pinot et Cinsault. Leurs caractères, résumés dans le tableau n° 2 (p. 38) indiquent que, parmi ces trois levures, deux se différencient nettement. Ce sont la première et la deuxième, c'est-à-dire celles provenant respectivement d'un plant d'Aïn-Kelb et d'un plant de Cinsault.

La première est à retenir à cause de son pouvoir alcoogène plus fort que celui de la deuxième à température ordinaire, et supérieur au pouvoir alcoogène des deux autres à température élevée.

De même, sa fermentation en milieux acides est plus rapide que pour les deux autres.

Enfin, elle a un coefficient d'utilisation du sucre plus normal que la seconde.

La troisième est à retenir surtout à cause des caractères qu'elle manifeste au point de vue chimique : acidité volatile plus faible de moitié que pour les deux premières et coefficient d'utilisation du sucre normal.

TABLEAU II. — Levures du Département d'Oran

	Nombre d'heures nécessaire au départ des fermentations en milieux d'acidité tar- trique égale à						Pouvoir alcoo- gène à 25°	Consom- mation du sucre à 38° Témoin — 19 gr. o/o	Etude chimique préliminaire						Acidité volatile o/oo
	1 o/o			3 o/o					Sucre o/oo			Rapport sucre alcool	Non sucre l'ex- trait o/o	Pou- voir fer- ment	
	2 o/o			3 1/2 o/o					Initial	Res- tant	Con- sommé				
	h.	h.	h.	h.	h.	h.									
a) Région d'Oran.							degrés	gr. o/o	gr.	gr.	gr.	degr.	gr.		gr.
Aramon (n° 26)	30	47	125	384			12,8	11,05	187,80	1,30	186,50	10,95		»	0,300
Carignan (n° 27)	30	47	102	348			43,4	4,70	188,75	2,00	186,75	9,75		»	0,940
Mourvèdre (n° 28)	30	47	102	240			43,1	7,75	188,75	1,95	186,80	10		»	0,950
b) Région de Sidi-Chami.															
Grenache (n° 24)	30	47	300	»			43	2,70	180,60	2,15	178,45	9,4		»	0,970
Mourvèdre (n° 25)	30	47	125	240			12,4	0,45	180,60	2,25	178,35	9,7		»	0,84
c) Région de Mascara.															
Ferhana (n° 23)	30	47	125	360			12,3	0,80	186,90	1,20	185,70	10,75		»	0,49
d) Région de Rivoli.															
Ain Kelb (n° 21)	30	48	146	458			11,5	6,80	180	1,45	178,55	10,4		120	0,634
Cinsault (n° 22)	30	48	280	»			11,5	5,50	173,50	1,35	172,15	10,5		148	0,520
e) Région de Tlemcen.															
Aramon Mansourah (n° 19)	20	32	72	90			8,2	6,50	175,50	1,35	174,15	10,25		96	0,586
Carignan (n° 20)	30	48	242	»			12,7	7,80	175,50	1,35	174,15	10,55		125	0,525

e) *Levures provenant de Tlemcen et Tlemcen-Mansourah.* — Les levures que j'ai étudiées provenant de cette région ont été isolées sur des plants de :

Alicante n° 1 Tlemcen

Alicante n° 2 —

Grenache —

Cinsault —

Aramon Mansourah.

Ces diverses levures provenant de Tlemcen effectuent très rapidement le départ de leur fermentation dans les premiers moûts à 1, 1 $\frac{1}{2}$, 2 et même 2 $\frac{1}{2}$ o/o d'acidité. Elles semblent donc, tout d'abord, très résistantes à ce point de vue. Mais, sauf la levure recueillie sur un plant de Grenache, et qui part en 114 heures dans 3 o o d'acidité, puis péniblement au bout de 20 jours dans 3 $\frac{1}{2}$ o/o, toutes les levures ne fermentent que difficilement dans les milieux à 3 o/o d'acidité, et pas du tout dans ceux à 3 $\frac{1}{2}$ o/o.

Au contraire, la levure recueillie sur un Aramon de Mansourah produit un départ rapide de fermentation dans les premiers tubes d'acidité croissante, et, en 90 heures quoique faiblement, dans le tube à 3 $\frac{1}{2}$ o/o d'acidité tartrique.

De l'ensemble des premiers caractères réunis au tableau 2 page 38 il résulte que la levure provenant de Mansourah et recueillie sur un plant d'Aramon, se différencie nettement des autres par une activité plus grande dans les milieux acidifiés par l'acide tartrique.

Pour les levures provenant de la région de Tlemcen, elles ne présentent pas entre elles de différences bien saillantes. L'une d'elles cependant, trouvée sur les plants de Carignan, est à retenir, de préférence, comme ayant un pouvoir alcooligène et une résistance à la chaleur plus élevés que les autres, tout en présentant des chiffres moyens quant à l'acidité volatile produite et au coefficient d'utilisation du sucre. C'est pour ces raisons que cette levure a été conservée dans la collection, pour représenter cette région vinicole, et en vue d'une étude plus complète.

3° DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE

Le nombre des levures étudiées provenant de ce département est plus restreint que celui des deux autres départements par suite de la moindre étude du vignoble et de l'interdiction du transport des raisins lors des prélèvements. Les levures provenant des plants eux mêmes sont rares ; leur nombre se réduit à trois. Toutes les autres n'ont pu être prélevées que sur des lies qui n'étaient pas toujours exemptes de tout mélange.

Les régions qui m'ont fourni quelques échantillons de la flore des levures du département de Constantine sont : Guelat-bou-Sba, Héliopolis, Souk-Ahras, Batna, Constantine.

Ce travail n'est donc que l'amorce d'une étude qui mérite d'être faite plus complètement.

a) *Levures provenant de la région de Guelat-bou-Sba.* — Elles ont été prélevées sur trois lies provenant :

- 1° En majorité de Carignan.
- 2° — Cinsault.
- 3° — Cinsault n° 2.
- 4° — Morastel.

D'après les chiffres fournis par les essais habituels, ces levures présentent des caractères peu différents. Leur pouvoir alcoogène est assez élevé, de même que leur production d'acidité volatile. La levure n° 3, recueillie sur la lie de Cinsault, ainsi que la levure n° 4 de Morastel, ont été conservées de préférence aux deux autres à cause de leur pouvoir alcoogène plus élevé, leur faible production d'acide volatile, ainsi que pour leur coefficient d'utilisation du sucre un peu plus faible.

b) *Levures provenant de la région d'Héliopolis.* — Elles sont au nombre de quatre : deux lies, provenant en majeure partie

de Carignan ; deux autres lies, provenant en majeure partie de Mourvèdre.

A la suite des premiers essais, deux levures ont été conservées en vue d'une étude plus complète : la levure n° 38, provenant d'une lie de Carignan, par suite de son coefficient d'utilisation du sucre normal et de l'importante consommation du sucre à 38° ; la levure n° 39, qui provient d'une lie de Mourvèdre, à cause du chiffre élevé de 15 gr. o/o de sucre consommé à 38°, et de son pouvoir alcoogène élevé (15°g).

Les caractères de ces deux levures sont résumés au tableau n° 3 page 42.

c) *Levures provenant de la région de Souk-Ahras.* — Les lies utilisées ont été au nombre de six, provenant principalement de Grenache, Carignan, Mourvèdre, Alicante et Cinsault.

Parmi ces levures, j'ai conservé en vue d'une étude plus complète :

1° La levure 34 provenant de lie de Grenache, pour sa résistance à l'acidité, son pouvoir alcoogène élevé, son coefficient normal d'utilisation du sucre.

2° La levure n° 32, provenant de lie de Carignan pour des raisons identiques en plus de sa consommation élevée de sucre à 38°.

3° La levure n° 35, provenant de lies de Mourvèdre à cause de son pouvoir alcoogène élevé (14°6).

Quant aux deux derniers individus provenant de lies d'Alicante et de Cinsault, leurs propriétés communes diffèrent considérablement des caractères des levures précédentes.

Ce sont des organismes de valeur utilisatrice inférieure puisque la consommation du sucre à 38° est nulle, le pouvoir alcoogène faible et le coefficient de transformation alcoolique du sucre très élevé. En dehors du sucre, ces levures laissent beaucoup plus d'extract que les autres. Pour elles, le chiffre du non-sucre de l'extract est très élevé. L'organisme provenant de la lie d'Alicante a été conservé dans la collection, sous le n° 33, à cause de ces caractères nettement tranchés.

TABLEAU III. — Levures du Département de Constantine

Etude chimique préliminaire																
Nombre d'heures nécessaire au départ des fermentations en milieux d'acidité tar- trique égale à	Pouvoir alcoo- gène à 25°					Consom- mation du sucre à 38° Temoin = 19 gr. o/o	Sucre o/oo			Degré alcoo- lique pro- duit	Rapport sucre alcoool	Non sucre de l'ex- trait o/o	Pon- voir fer- ment	Acidité volatiles o/oo		
	1 o/o	2 o/o	3 o/o	3 1/2 o/o	h.		h.	gr. o/o	gr.						gr.	
																Initial
a) Région de Guelat-bou- Sba.																
Cinsault (n° 36)	50	80	120	180	180	14,7	11,10	2,90	185,25	16,54	1,68	154	1,04			
Morastel (n° 37)	50	72	96	288	288	45,7	9,40	13,30	174,95	16,74	»	»	1,14			
b) Région d'Helipolis.																
Carignan (n° 38)	50	95	176	»	»	12,7	13,25	5,85	183,20	16,73	1,82	176	1,50			
Mourvèdre (n° 39)	50	95	176	»	»	45,9	45	2,90	186,15	46,62	1,68	148	0,98			
c) Région de Souk Ahras.																
Carignan (n° 32)	50	75	144	200	200	13,9	43,60	11,60	177,20	16,64	1,82	»	1,56			
Alicante (n° 33)	95	95	95	144	144	7,2	0	52,85	135,95	18,49	3,27	84	1,13			
Grenache (n° 34)	50	75	144	288	288	44,4	7,70	3,65	185,15	46,53	1,81	108	1,18			
Mourvèdre (n° 35)	50	75	144	288	288	44,6	10,00	2,40	186,40	16,72	1,69	105	0,88			
d) Région de Constantine.																
Aramon (n° 29)	30	47	143	»	»	12,8	8,80	1,30	180,20	18,11	»	»	0,27			
Aramon (n° 30)	30	47	125	210	210	13,2	10,30	1,35	180,15	18,47	»	»	0,49			
e) Région de Batna.																
Mourvèdre (n° 31)	30	47	102	191	191	12,9	10,70	1,70	170,80	18,73	»	»	0,78			

d et e) *Levures des régions de Constantine et de Batna.* — Enfin trois levures, prélevées sur le raisin lui-même, ont été étudiées dans le département de Constantine, elles proviennent de plants d'Aramon de Constantine et d'un plant de Mourvèdre de Batna.

Ces trois levures présentent un assez fort coefficient de transformation de sucre en alcool. Malgré cela, elles ont été conservées toutes trois en vue d'une étude plus complète, à cause de leur consommation importante de sucre à haute température et de leur pouvoir alcoogène élevé. La levure provenant de l'Aramon n° 1 a en outre la propriété de produire une plus faible acidité volatile que les deux autres.

II. — Levures étrangères.

A l'étude des levures algériennes, j'ai voulu ajouter, dans un simple but de comparaison, l'étude d'un certain nombre de levures provenant de régions où la fermentation alcoolique s'effectue à des températures élevées ou sur des moûts riches en sucre, en plaçant ces ferments alcooliques dans les mêmes conditions et dans les mêmes milieux que les levures de provenance algérienne.

J'ai pu étudier ainsi quelques échantillons provenant de Modica (Sicile), de la province de Valence (Espagne), de l'île de Madère, enfin de diverses parties du Portugal.

1° LEVURES PROVENANT DE SICILE

Ces levures ont été obtenues par isolement des organismes provenant d'un fragment de papier-filtre stérile, trempé dans les cuves en pleine fermentation. Les procédés d'isolement et de sélection appliqués à l'étude des levures algériennes, ont été appliqués ici de la même façon et m'ont donné sept individus dont les provenances sont les suivantes :

N° 1. Hybride Grimaldi 935.

N° 2. Mélange des deux cépages rouges les plus répandus à Modica : Frappato et Calabrese.

N° 3. Hybride Grimaldi n° 88.

N° 4. — n° 88.

N° 5. — n° 953.

N° 6. Producteurs directs, d'origine française, importés en Sicile.

N° 7. Provient du Cataratto, le plus répandu des cépages blancs en Sicile.

Les levures qui ont été isolées ont présenté dans les conditions de l'expérience des propriétés assez curieuses pour que la plupart d'entre elles aient été conservées. La fermentation en présence d'acide tartrique n'a pas été poussée aussi loin que d'ordinaire.

L'acidité volatile produite a été extrêmement faible dans la plupart des cas. De plus, à l'exception de la levure n° 1, toutes les autres produisent en cultures liquides, aussi bien en large surface des ballons qu'en surface étroite des tubes à essai, un voile assez épais.

Le n° 1 a été conservé à cause de l'absence de voile et de la consommation plus élevée de sucre à température élevée.

Le n° 2 a été conservé pour son origine (mélange de Frappato et Calabrese).

Le n° 4 pour son acidité volatile très faible, 0 gr. 055 0/00.

Le n° 6 pour son origine (producteurs français directs).

Le n° 7 pour le degré alcoolique élevé (14°) atteint à 25°.

Les caractères principaux de ces levures sont résumés dans le tableau n° 4 page 48-49.

2° LEVURES DE PROVENANCE ESPAGNOLE

Elles me sont parvenues de la province de Valence et ont été prélevées sur Liria blanc et rouge et sur Calabarra blanc et rouge.

La résistance de ces levures à l'acidité n'est pas très élevée, aucune ne fermente en milieu à 3 1/2 o/o d'acide tartrique et, sauf pour la levure n° 3 qui effectue le départ en 310 heures, ces individus ne font pas fermenter le milieu à 3 o/o, ou bien, ce départ est très tardif et la fermentation très faible. Leur pouvoir alcoogène est généralement assez élevé, surtout pour les n°s 3 et 4 qui atteignent respectivement à 25° : 14°4 et 16°4.

Leur consommation de sucre à 38° est variable. Le n° 3 atteint 7 gr. 70 o/o sur 19 gr. o/o de richesse sucrée initiale. La quantité d'acidité volatile produite est très variable : la plus faible observée (0,25 o/oo) est celle du n° 1. Le coefficient d'utilisation du sucre est assez bas pour toutes ces levures.

Aussi, la plupart de ces organismes ont-ils été retenus en vue d'une étude plus approfondie à cause du caractère distinctif de chacune d'elles.

N° 1. Liria blanc : acidité volatile, coefficient d'utilisation du sucre réduits.

N° 2. Liria rouge : à cause de son origine.

N° 3. Calabarra blanc : résistance à l'acidité mieux accentuée, consommation plus grande de sucre à 38°.

N° 4. Calabarra rouge : pouvoir alcoogène élevé.

N° 5. Liria blanc : très faible coefficient de transformation alcoolique du sucre.

3° LEVURES PROVENANT DE L'ILE DE MADÈRE

Ces levures proviennent soit de cépages Tinta, soit de cépages Verdelho, mais, le plus souvent, d'un mélange de plusieurs cépages.

Les premières opérations d'isolement et de sélection m'ont fait conserver les levures suivantes :

1 et 2, provenant des cépages Tinta.

3, 4, 5, 6, 7, provenant d'un mélange de plusieurs cépages.

8, 9, provenant de cépages Verdelho.

L'étude préliminaire de ces levures a établi les caractères suivants qui sont résumés dans le tableau n° 4, pages 48-49.

Quatre de ces levures ont été conservées en vue d'une étude plus complète, à cause de leur propriété la mieux caractérisée dans les conditions des expériences précédentes.

La levure n° 2 a été conservée pour son origine : Tinta-Madère, pour son coefficient normal d'utilisation du sucre, pour son pouvoir alcoogène très élevé 17°6.

Cette résistance à l'alcool a été vérifiée maintes fois dans mon laboratoire au sujet de cette levure. L'activité de cet organisme s'est toujours montrée très grande dans toutes les expériences où j'ai suivi, par une courbe qui s'élevait très rapidement, la disparition du sucre. Les conditions d'expérience ordinaires n'étant pas, à ce sujet, les plus favorables à la levure, je l'ai placée une fois dans des conditions meilleures (jus de raisin frais fortement sucré et aéré tous les jours). L'élévation du degré alcoolique, très rapide dès les premiers jours, a continué longtemps pour atteindre, au bout de 42 jours, 19° 2 1/2.

La levure n° 3 a été conservée pour sa résistance très marquée à l'acidité. Elle fermente en 168 heures dans un milieu à 3 1/2 o/o d'acide tartrique. Son pouvoir alcoogène est également élevé, 17°1. L'acidité volatile produite est faible, 0,38 o/oo. Le rapport sucre-alcool est normal (16,79).

Les principaux caractères de la levure n° 4, également conservée, sont : consommation élevée du sucre à 38°, 12,30 o/o sur un moût de 19 o/o de richesse sucrée initiale, et acidité volatile faible, 0,43 o/oo.

Les principaux caractères de la levure n° 8, conservée elle aussi en vue d'une étude plus complète, sont : origine intéressante (Verdelho-Madère) et pouvoir alcoolique élevé : 15,7.

4° LEVURES PROVENANT DU PORTUGAL

Les diverses levures provenant du Portugal ont été prélevées sur des lies.

Les unes ont été prélevées à Alpiana, près de Santarem, provenant de mélanges de cépages rouges et de mélanges de cépages blancs.

Une deuxième série de levures portugaises a été également étudiée mais leur provenance exacte n'a pu être établie, la liste les accompagnant n'étant pas parvenue à mon laboratoire malgré diverses recherches.

Première série. — Levures de Santarem.

Le caractère principal de ces levures est de n'offrir qu'un coefficient d'utilisation de sucre extrêmement faible. De toutes les levures que j'ai étudiées ce sont celles qui ont consommé le moins de sucre pour donner un même volume d'alcool puisque toutes, sauf la levure n° 4, voient, dans les conditions de l'expérience habituelle, ce coefficient s'abaisser aux environs de 16.

Pour l'expérience précitée, ce résultat a d'ailleurs été confirmé par la faible quantité de principes fixes trouvés dans le liquide après fermentation. Abstraction faite du sucre, ce résidu fixe à 100°, qui constitue l'extrait des vins est en général plus petit que 1,42 o/o sauf pour la levure n° 4 où il est égal à 1,86 o/o.

Plusieurs de ces levures ont été conservées à cause de caractères tranchés assez nettement dans les conditions des épreuves indiquées au tableau suivant.

N° 2. Pouvoir alcoogène élevé et faible acidité volatile produite.

N° 3. Coefficient d'utilisation du sucre très réduit.

N° 4. Origine spéciale : cépages portugais blancs.

Une seconde série de prélèvements, représentant des levures de diverses régions du Portugal, m'a donné toute une série de levures, que, à l'heure actuelle, je désigne par les chiffres de 1 à 14 ; la levure portugaise P₆ a succombé pendant le transport.

Ces 13 levures m'ont donné, après isolement et première sélection 33 organismes qui tous ont été soumis aux épreu-

TABLEAU I

	Nombre d'heures nécessaire au départ des fermentations en milieux d'acidité tartrique égale à				Pouvoir alcoo- gène à 25°	Con- ma du s à Tén = 1 0
	1 o/o	2 o/o	3 o/o	3 1/2 o/o		
	h.	h.	h.	h.	degrés	gr.
1° Levures de Sicile.						
Hybride Grimaldi 935 (S ₁)	23	47	»	»	8,6	6,
Frappato et Calabrese (S ₂)	47	70	136	»	12,95	1,
Hybride Grimaldi 88 (S ₄)	23	70	238	»	13,85	2,
Producteurs directs français (S ₆)	47	47	282	»	7,7	1,
Cataratto (S ₇)	23	47	192	»	14	1,
2° Levures d'Espagne.						
Liria blanc (V ₁)	42	88	»	»	13	3,
Liria rouge (V ₂)	42	88	384	»	12,9	0
Calabarra blanc (V ₃)	42	88	310	»	14,4	7,
Calabarra rouge (V ₄)	42	88	»	»	16,4	5,
Liria rouge (V ₅)	42	120	380	»	11,4	3,
3° Levures de Madère.						
Tinta (M ₂)	30	168	»	»	17,6	4,
Mélange (M ₃)	30	48	96	168	17,1	8,
Mélange (M ₄)	30	80	120	350	12,8	12,
Verdelho (M ₈)	30	48	192	»	15,7	6,
4° Levures de Portugal.						
Cépages rouges (A ₂)	32	85	160	»	13,5	9,
Cépages rouges (A ₃)	32	85	220	»	12,4	5,
Cépages blancs (A ₄)	32	85	160	»	8,4	7,
P ₁	280	»	»	»	13,8	9,
P _{1bis}	260	»	»	»	10,9	11,
P ₂	24	72	»	»	15,4	11,
P ₃	24	72	192	360	15,2	10,
P ₄	24	48	»	»	12,8	7,
P ₅	24	48	»	»	12,4	9,
P ₇	18	36	88	110	11,4	6,
P ₈	24	48	110	»	12,5	3,
P ₉	24	88	»	»	12,8	2,
P ₁₀	32	48	72	72	2,4	9,
P ₁₁	48	»	»	»	1,6	2,
P ₁₂	16	24	48	108	9,8	9,
P ₁₃	16	24	72	120	9,2	6,
P ₁₄	16	24	48	»	9,8	9,

res étrangères

Etude chimique préliminaire							
Sucre o/oo			Degré alcoolique produit	Rapport sucre alcool	Non sucre de l'extrait o/o	Pouvoir ferment	Acidité volatile o/oo
Initial	Restant	Consommé					
gr.	gr.	gr.	degrés		gr.		gr.
4,80	11,50	163,30	10	16,33	»	»	0,55
»	2,10	172,70	10,2	16,93	»	77	0,13
»	1,70	173,10	10,5	16,48	»	»	0,055
»	1,70	173,10	10,1	17,13	»	71	0,06
»	1,65	173,15	10,35	16,73	»	72	0,07
4,75	2,00	172,75	10,65	16,22	1,53	189	0,25
»	2,15	172,60	10,6	16,28	1,60	171	0,69
»	1,90	172,85	10,65	16,23	1,59	185	0,52
»	1,95	172,80	10,5	16,45	1,56	181	0,58
»	1,85	172,90	10,8	16,05	1,55	123	0,88
9,75	1,75	178,00	10,5	16,95	1,53	158	0,74
»	1,75	178,00	10,6	16,79	1,55	168	0,38
»	1,70	178,05	10,5	16,96	1,595	135	0,43
»	1,20	178,55	10,35	17,25	1,63	123	0,55
74,75	1,30	173,45	10,9	15,91	1,35	205	0,49
»	1,25	173,50	10,8	16,06	1,41	?	0,50
»	1,30	173,45	10,65	16,28	1,86	216	0,49
78,00	3,05	174,95	10,25	17,06	»	»	0,76
»	5,45	172,55	10,3	16,75	»	»	1,46
»	1,90	176,10	10,7	16,46	»	»	1,12
»	2	176,00	10,95	16,07	»	»	0,78
81,50	2	179,50	10,7	16,77	»	»	0,96
»	1,85	172,65	10,8	16,63	»	»	0,97
»	2,00	179,50	10,75	16,70	»	»	0,65
»	8,20	173,30	10,55	16,42	»	»	0,76
»	1,80	179,70	10,85	16,56	»	»	0,60
62,50	32,80	129,70	4,3	30,16 ?	»	»	0,39
»	98,35	64,15	2,65	24,20 ?	»	»	0,21
»	1,95	160,55	9,5	16,90	»	»	0,78
»	1,40	161,10	10,1	15,85	»	»	0,70
»	1,20	161,30	10	16,13	»	»	0,67

ves des fermentations en milieu fortement sucré, en milieux acides, à température élevée aux environs de 38°, ainsi qu'à l'analyse préliminaire des produits d'élaboration de ces levures.

Afin de ne pas augmenter trop considérablement le nombre de chiffres donné par ces diverses expériences, je ne mentionnerai ici, sous forme de tableau n° 4, que les principaux résultats donnés par l'étude des levures de cette série.

Dans ce tableau, les chiffres soulignés indiquent les caractères qui, en plus de leur origine, ont fait conserver ces levures en vue d'une étude plus complète. De plus, la levure P₁ *bis* présente une propriété particulière, qui consiste à former au fond du ballon où elle travaille un dépôt grumeleux, se déposant presque instantanément après agitation. Les ferments P₁₀ et P₁₁, cultivent largement en surface, en milieu liquide, et affectent plutôt les allures de mycodermes.

En résumé, les expériences précédentes m'ont permis d'établir une sélection entre les différentes levures algériennes et étrangères étudiées ; celles qui ont été conservées en vue d'une étude plus complète sont les suivantes :

1° *Levures algériennes*

N° 1 Lie 1905 Miliana.	N° 13 Carignan Marguerite.
N° 2 Aramon »	N° 14 Aïn-Kelb Rouïba.
N° 3 Alicante »	N° 15 Carignan »
N° 4 Cabernet »	N° 16 . » »
N° 5 Valensi »	N° 17 Mourvèdre »
N° 6 Mourvèdre »	N° 18 Cinsault Port-Gueydon.
N° 7 Cabernet Ténès.	N° 19 Aramon Mansourah.
N° 8 Aramon Bouzaréah.	N° 20 Carignan Tlemcen.
N° 9 Alicante Médéa.	N° 21 Aïn-Kelb Rivoli.
N° 10 Carignan »	N° 22 Cinsault »
N° 11 Lie rouge Tipasa.	N° 23 Ferhana Mascara.
N° 12 Lie blanche Tipasa.	N° 24 Grenache Sidi-Chami.

N° 25 Mourvèdre Sidi-Chami.	N° 34 Grenache Souk-Ahras.
N° 26 Aramon Oran.	N° 35 Mourvèdre » »
N° 27 Carignan »	N° 36 Cinsault Guelat-bou-
N° 28 Mourvèdre »	Sba.
N° 29 Aramon Constantine.	N° 37 Morastel Guelat-bou-
N° 30 » »	Sba.
N° 31 Mourvèdre Batna.	N° 38 Carignan Héliopolis.
N° 32 Carignan Souk-Ahras.	N° 39 Mourvèdre Héliopolis.
N° 33 Alicante » »	

2° *Levures étrangères*

Modica Sicile (S.).	{	S ₁ Hybride Grimaldi 935.
		S ₂ Frappato et Calabrese.
		S ₄ Hybride Grimaldi 88.
		S ₆ Producteurs français directs.
		S ₇ Cataratto.
Espagne Valence (V).	{	V ₁ Liria blanc.
		V ₂ Liria rouge.
		V ₃ Callabara blanc.
		V ₄ » rouge.
		V ₅ Liria rouge.
Madère (M.).	{	M ₂ Tinta.
		M ₃ Mélange.
		M ₄ Mélange.
		M ₈ Verdelho.
Portugal Alpiana (A.).	{	A ₂ Mélange de cépages rouges.
		A ₃ » » »
		A ₄ » » blancs.

Portugal : levures diverses numérotées de P₁ à P₅ et de P₇ à P₁₄.

CHAPITRE III

ETUDE COMPLÉMENTAIRE DES LEVURES PROVENANT DE L'ÉTUDE PRÉCÉDENTE

J'ai continué, sur les levures ainsi sélectionnées, l'étude des caractères importants, et, en particulier, celle de la résistance à la chaleur, de la nature de l'acidité volatile produite, de l'action sur les sucres (saccharose, glucose, lévulose, lactose et maltose), de la sporulation (formes et temps nécessaire). Cet ensemble d'expériences constitue en quelque sorte une dernière série d'épreuves de sélection de ces levures.

1° *Résistance à la chaleur.* — Les levures étudiées ont été soumises uniquement à l'action de la chaleur en milieu humide à 45°, 50°, 55° et 60° appliquée pendant 5 minutes et 10 minutes. L'opération s'effectue en prenant des levures en pleine activité et en diluant quelques gouttes de leur culture jeune dans un petit matras d'eau distillée.

Cette dilution a pour but de détruire l'action que l'alcool ou le sucre de la culture pourraient avoir sur l'activité de la levure.

Cette dilution aqueuse de levures est ensuite reportée aseptiquement dans des ampoules de verre très effilées, que l'on scelle à la lampe aux deux extrémités, en ne laissant dans ces ampoules que le moins possible d'air. Ces diverses ampoules sont ensuite plongées, pendant le temps voulu, dans un bain-marie contenant l'eau chauffée à la température convenable.

On les refroidit ensuite dans de l'eau à la température normale ; puis, ces ampoules, ouvertes, servent à ensemercer des tubes de milieu sucré stérile où la fermentation se déclare ou non, selon que la levure a résisté ou non à la température à laquelle on l'a soumise. Ces ampoules et ces tubes de culture sont faits, au moins en double, de façon à mieux assurer l'exactitude des résultats.

Dans ces conditions d'expériences, la résistance des levures algériennes et étrangères à la chaleur a fourni les résultats suivants (1) :

1° *Levures algériennes*. — Sur 39 levures mises en expérience, une seule (n° 6) n'a pu résister à une température supérieure à 45° pendant 10 minutes.

10 ont résisté à une température de 50° pendant 10 minutes

10	—	—	55°	—	5	—
18	—	—	55°	—	10	—

Aucune n'a résisté aux températures de 60° pendant 5 ou 10 minutes.

2° *Levures étrangères*. — Sur 30 levures mises en expérience,

(1) Tableau de la résistance des levures à la chaleur

		Levures algériennes	Levures étrangères
45°	10 minutes	n° 6	
50°	10 minutes	n°s 1, 2, 3, 4, 5, 26, 33, 36, 39	S ₂ , S ₄ , S ₅ . V ₁ , V ₃ , V ₄ . M ₂ , M ₃ , M ₈ . A ₂ , A ₃ . P ₂ , P ₄ , P ₅ , P ₈ . P ₉ , P ₁₁ , P ₁₂ . P ₁₃ , P ₁₄ .
55°	5 minutes	n°s 9, 16, 17, 18, 20, 31, 34, 35, 37, 38	S ₇ , V ₂ , V ₅ , A ₄ . P ₁ , P ₇ .
55°	10 minutes	n°s 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 21, 22, 23, 24, 27, 28, 29, 30, 32.	S ₁ , M ₄ , P ₃ , P ₁₀ .

20 ont résisté à une température de 50° maintenue pendant 10 minutes.

6 ont résisté à la température de 55°, maintenue pendant 5 minutes.

4 seulement ont résisté à la température de 55° pendant 10 minutes Aucune n'a résisté aux températures de 60°.

2° *Nature de l'acidité volatile.* — Un volume donné du liquide de fermentation est alcalmisé légèrement au moyen d'une solution de potasse ou de soude, et distillé ensuite de façon à recueillir le tiers environ du volume sur lequel on opère. Dans ces conditions, les produits volatils tels que les alcools sont éliminés. On acidifie, après refroidissement, le liquide restant dans le ballon, au moyen d'un léger excès d'acide tartrique qui libère les acides volatils, et leur permet de distiller dans la seconde partie de l'opération. La distillation est poussée jusqu'à ce que le résidu soit assez faible dans le ballon.

Le distillat, privé des principes volatils autres que les acides, privé également des principes fixes restés dans le ballon, représente assez bien une dilution aqueuse des acides volatils produits pendant la fermentation et qu'il s'agit de déterminer qualitativement. Son volume est alors ramené à 110 cc. à la température du laboratoire et la nature de l'acidité volatile est déterminée par la méthode de Duclaux.

Dans les conditions des expériences citées plus haut, les résultats ont été les suivants :

Aussi bien pour les levures étrangères que pour les levures algériennes, la courbe de distillation fractionnée s'est rapprochée très sensiblement de la courbe type, établie par Duclaux, pour l'acide acétique. On peut donc conclure que, dans la très grande majorité des cas, l'acide volatil élaboré sous l'action des levures étudiées ici est de l'acide acétique.

Seuls ont fait exception à cette règle, d'une façon bien caractérisée, quelques organismes appartenant à l'une et l'autre des deux séries.

1° *Levures algériennes.* — Les ferments 6 et 33 ont donné un acide volatil dont la courbe de distillation fractionnée, selon Duclaux, est intermédiaire entre les courbes types établies pour l'acide acétique et l'acide propionique et se rapproche plutôt de ce dernier. Ils se distinguent donc nettement des autres levures à ce sujet. L'étude de leurs différents caractères a d'ailleurs permis plus tard de rapprocher ces ferments nos 6 et 33 des torulas plutôt que des véritables saccharomycètes.

2° *Levures étrangères.* — Il en est de même pour l'organisme n° P¹⁰ dont l'acide volatil offre une courbe de distillation fractionnée sensiblement voisine de celle de l'acide propionique. Cet organisme P₁₀ offre d'ailleurs, lui aussi, des caractères assez éloignés de ceux des vraies levures alcooliques et affecte, plutôt comme nous le verrons ensuite, les allures de mycoderme.

Les levures de Sicile, désignées par S₂, S₄, S₆ et S₇, donnent également une courbe d'acidité volatile très voisine de celle de l'acide propionique.

Il serait évidemment prématuré de conclure que ces levures donnent toujours cette sorte d'acide volatil dans leur fonctionnement en milieu sucré, puisqu'il faudrait faire, à ce sujet, un très grand nombre d'expériences en divers milieux. De plus, ces levures ne donnent que de minimes quantités de produits volatils, rendant ainsi moins précis les dosages fractionnés. Mais il y a lieu de remarquer que la levure S₄, de même provenance qu'elles, qui fournit une quantité normale d'acidité volatile (0 gr. 550 par litre), donne une courbe d'acide acétique normale, tandis que les quatre autres levures, S₂, S₄, S₆, S₇, dont la courbe est voisine de celle de l'acide propionique, ne produisent que des quantités très faibles et pour ainsi dire anormales d'acides volatils (de 0 gr. 055 à 0 gr. 130 par litre).

Il est donc possible de faire un rapprochement entre l'anomalie quantitative et l'anomalie qualitative de l'acidité volatile produite au cours de ces fermentations.

3° *Nature des sucres susceptibles de fermenter sous l'action des levures.* — Le caractère est important, puisque c'est celui sur lequel se basent Hansen [45] et Guilliermond [37] pour grouper les divers *Saccharomyces* ; (levures de brasserie, distillerie, cidrerie, vinification) en sous-groupes, selon leurs caractères de fermentation.

Les méthodes employées ont été les suivantes : divers sucres (saccharose, dextrose, lévulose, lactose et maltose) sont obtenus à l'état pur, d'après les méthodes indiquées par Maquenne [69], ou purifiées par cristallisations répétées jusqu'à pouvoir rotatoire sensiblement exact, et que leur incinération ne laisse que des traces de cendres. On en fait une dissolution aqueuse à 10 o/o que l'on stérilise à l'autoclave à 110° 10 minutes.

D'autre part, on répartit et on stérilise en tubes un milieu liquide nutritif mais dépourvu de sucre. Les milieux employés dans mes expériences ont été :

1° Le milieu de Laurent, double moins le sucre, c'est-à-dire un liquide composé de :

Sulfate d'ammoniaque	9 gr. 42
Phosphate de potasse.	1 gr. 50
Sulfate de magnésie	0 gr. 20
Eau	1000 cc.

2° De l'eau de touraillons privée des matières sucrées qu'elle contient par large ensemencement à l'aide d'une levure active, capable de faire fermenter le maltose, et séjour à l'étuve, à 25° pendant un mois avec agitations quotidiennes. Le liquide est ensuite filtré et bouilli.

Au moment de l'expérience, on ajoute dans le tube contenant le milieu nutritif, un volume égal de la solution stérile du sucre à étudier. On ensemence avec une trace de levure et on place à l'étuve à 25°.

L'action positive ou négative de la levure sur le sucre en expérience est établie par l'examen quotidien des tubes et par l'essai à la liqueur de Fehling au bout d'un certain temps.

Dans quelques cas douteux, on peut enfin avoir recours à la méthode de Lindner, consistant à placer la levure dans une chambre humide avec un peu d'eau de levure et une trace de sucre à étudier. Le tout est mis 24 heures à l'étuve à 25°. La fermentation, si elle se déclare, produit la formation d'une grosse bulle gazeuse que l'on identifie avec l'acide carbonique par sa disparition après addition d'une gouttelette de solution de potasse.

Pour le maltose, sucre dont on obtient difficilement une suffisante pureté, des cultures de vérification ont été faites sur moût de malt saccharifié et dosage exact du sucre avant et après l'action de la levure.

Dans les conditions de ces expériences l'action des levures algériennes et étrangères sur les divers sucres a été :

	Levures algériennes	Levures étrangères
1° Saccharose . . .	Toutes les levures font fermenter ce sucre sauf les levures n ^{os} 9, 15, 16, 25 et 33.	Toutes font fermenter activement ce sucre sauf les levures n ^{os} P ₁₀ , P ₁₁ et P ₁₂ .
2° Glucose	Toutes les levures font activement fermenter ce sucre.	
3° Lévulose	Toutes les levures font activement fermenter ce sucre.	
4° Maltose	Toutes les levures font fermenter ce sucre sauf les levures n ^{os} 6, 7, 25 et 33.	Toutes les levures font fermenter ce sucre sauf les levures S ₂ , S ₆ , S ₇ , P ₁ , P ₃ , P ₁₀ et P ₁₁ .
5° Lactose	Aucune des diverses levures étudiés n'a d'action fermentaire sur ce sucre.	

L'absence de toute action fermentaire sur le saccharose pour certaines levures d'Algérie a été vérifiée par des expériences plus précises effectuées au moyen des organismes n^{os} 9 et 15.

A cet effet la levure n° 15 a été ensemencée dans des milieux contenant :

Le premier du dextrose pur (20 o/o).

Le second du lévulose pur (20 o/o).

Le troisième du saccharose pur (20 o/o).

Le quatrième un mélange à parties égales de glucose et de lévulose (10 o/o de chaque).

Le cinquième un mélange à parties égales de saccharose et de dextrose (10 o/o de chaque).

Le sixième un mélange à parties égales de saccharose et de lévulose (10 o/o de chaque).

Les densités respectives de ces milieux, étaient avant tout ensemencement :

N° 1. Dextrose	1.085 ⁰⁵
N° 2. Lévulose	1.085
N° 3. Saccharose	1.086
N° 4. Dextrose-lévulose	1.087
N° 5. Dextrose-saccharose	1.085 1/2
N° 6. Lévulose-saccharose	1.085

Et, après ensemencement avec la levure n° 15, ces milieux, placés à l'étuve à 25° pendant un mois, ont montré, par une observation quotidienne, des décroissances de densité très variées.

Le n° 1 (dextrose) parti de 1.085 1/2 a atteint au bout de 17 jours la densité fixe de 990.

Le n° 2 (lévulose) a atteint dans le même temps la densité de 992.

Le n° 3 (saccharose) a conservé sensiblement la même densité puisque, au bout de 30 jours, celle-ci n'avait atteint que le chiffre invariable de 1.082.

Le n° 4 (dextrose-lévulose) atteint en 17 jours le terme de 995.

Les n°s 5 et 6 (dextrose-saccharose et lévulose-saccharose) atteignent au bout de 15 et 17 jours les densités respectives de 1.032 et 1.036 1/2 en s'y maintenant invariablement.

D'ailleurs, pendant toute la durée de l'expérience, les tubes 1, 2 et 4 (sucres en C_6) sont le siège d'un actif mouvement de fermentation. Le n° 3 (sucre en C_{12}) ne présente aucun phénomène de fermentation. Les tubes 5 et 6 (mélange de sucres en C_6 et C_{12}) présentent une fermentation active pendant la première moitié de l'expérience pour rester inactifs dans la seconde moitié.

Les dosages de l'alcool obtenu dans chacun de ces six tubes, ainsi que l'examen chimique et polarimétrique des sucres restant, confirment bien les indications densimétriques.

Les n°s 1, 2 et 4 (sucres en C_6) présentent en effet les degrés alcooliques respectifs de 10°4, 10°2, 10°6 avec une faible quantité de sucre restant.

Le n° 3 (saccharose) ne présente que des traces d'alcool avec une quantité de sucre restant égale à 18 gr. 87 o/o à l'état de sucre *non réducteur*.

Les n°s 5 et 6 (mélanges de sucres en C_6 et de saccharose) présentent respectivement les degrés alcooliques de 5°2 et 4°9 avec 92 grammes et 96 grammes de sucre restant à l'état de sucre *non réducteur*.

Cette expérience répétée plusieurs fois, confirmée par les fermentations en présence de sucres purs dans le milieu de Laurent où l'eau de touraillons concorde donc bien avec les résultats de Klöcker [58] et de Hansen [41] qui concluent qu'une levure qui, normalement, n'intervertit pas le saccharose ne peut être amenée, même par la présence d'autres sucres, à dédoubler ce saccharose.

La présence ou l'absence de certaines diastases constituent donc bien un élément important pouvant servir à la classification de l'espèce.

Dans le tube n° 4 (saccharose) on constate une légère diminution de densité, concordant avec une petite perte de sucre sensible à l'analyse, mais ce fait peut être expliqué par la consommation du sucre par la levure pour sa propre existence et l'édification de ses nouvelles cellules. En effet, dans ce milieu saccharosé, sans effectuer de fermentation, ces levures

9, 15 et 16 se multiplient : la levure 9 au fond, les levures 15 et 16 au fond et activement en surface.

4° *Sporulation des levures.* — Après plusieurs essais la méthode à laquelle j'ai eu recours est l'ancienne méthode si classique des blocs de plâtre.

La levure est rajeunie par plusieurs repiquages successifs, finalement on lui laisse former au fond de son matras un léger dépôt qui, après décantation, est versé sur un bloc de plâtre stérile, placé dans un cristalliseur avec une réserve suffisante d'eau. On expose ensuite la préparation à la température de 25° en prélevant, à intervalles réguliers avec un fil de platine, une parcelle de l'enduit blanc qui recouvre les blocs. Par l'examen microscopique, on note : le temps nécessaire pour effectuer la sporulation, la forme ou les formes principales affectées par les cellules sporulées. Enfin, on caractérise les spores par coloration selon la méthode de Möller légèrement modifiée (1).

Dans le cas d'insuccès de la méthode sur bloc de plâtre, on peut essayer la méthode Gorodkowa [34] en milieu gélosé, peptoné, et faiblement glucosé.

Dans ces conditions, c'est-à-dire à 25° de température et sur blocs de plâtre, les diverses levures étudiées ont sporulé de la façon suivante :

1. La culture est diluée sur lame dans une gouttelette d'eau alcoolisée à 20 o/o afin de détruire autant que possible l'adhérence entre les cellules et obtenir une préparation plus nette. On laisse sécher, on fixe par l'alcool absolu que l'on verse sur la lame et qu'on laisse sécher.

On mordance ensuite la préparation par une immersion de 5 minutes dans une solution aqueuse d'acide chromique à 5 o/o, on lave.

On colore au Ziehl 10 minutes à froid (l'affinité des spores de levure pour le Ziehl est en effet si forte qu'il est inutile de colorer 5 ou 6 heures à froid ou plusieurs minutes à chaud). Cette coloration au Ziehl est suivie d'un lavage à l'eau courante de quelques instants pour faire disparaître l'excédent de colorant.

On décolore ensuite, non par l'aniline chlorhydrique insuffisante dans ce cas, mais par l'acide azotique au tiers que l'on fait passer très rapidement sur la préparation. On lave. Le fond est finalement coloré par une application de bleu de méthylène pendant 10 minutes.

Levures algériennes

Levure — Numéros	Nombre d'heures nécessaires à la sporulation —	Formes principales de la sporulation (1) —
1	168 heures	2-3-4
2	70 »	2-3-4
3	160 »	2 en grande majorité
4	sporulation lente et partielle	
5	168 heures	2-3-4
6	ne sporule pas	
7	96 heures	2-3'
8	120 »	2-3'-4'
9	72 »	3' en majorité
10	96 »	2 (rares) 3' 4'
11	114 »	3' 4'
12	120 »	3'-4'
13	114 »	2-3'
14	150 »	2-3'
15	78 »	2-3'
16	90 »	2-3'
17	100 »	2-3'-4''
18	240 »	3'-4'
19	240 »	2-3'-4''
20	sporulation lente et partielle	
21	140 heures	2-3'-4'
22	88 »	2-2'-4'-4''
23	84 »	2-3-3'-4'
24	120 »	2-3'-4'
25	144 »	2-3'-4'-4''
26	sporulation lente et partielle	
27	sporulation lente et partielle	3'
28	216 heures	2-3'
29	115 »	4-4'
30	182 »	2-3-3'
31	72 »	2-3'
32	240 »	2-3-3'-4

1. Pour plus de simplicité je désigne par les chiffres 2, 3, 3 *bis*, 4, 4 *bis* les diverses formes observées. 2 représente la forme de 2 spores à côté l'une de l'autre. 3 : la forme de 3 spores en file. 3 *bis* : 3 spores disposées en triangle. 4 : la forme 4 spores en file. 4' : 4 spores disposées en croix. 4'' : la forme tétrade.

Levure — Numéros	Nombre d'heures nécessaires à la sporulation —	Formes principales de la sporulation —
33	ne sporule pas	
34	216 heures	sporulation très lente et très incomplète
35	168 »	
36	120 »	
37	96 »	2-3-3'
38	de 48 à 60 h. (totale)	2-3-3'-4'
39	264 heures (lente, incomplète)	2-3'

Sporulation des levures étrangères

Levure —	Nombre d'heures nécessaires à la sporulation —	Formes principales de la sporulation —
S 1	n'a pas sporulé dans les conditions de l'expérience	
S 2	—	—
S 4	120 heures	2 (rares) 3'-4''
S 6	148 »	3' en majorité
S 7	n'a pas sporulé dans les conditions de l'expérience	
V 1	120 heures	3'-4''
V 2	120 »	3'-4'
V 3	120 »	2-3'
V 4	n'a pas sporulé dans les conditions de l'expérience	
V 5	72 heures	2-3-3', 4-4'
M 2	ne sporule que partiellement dans les conditions de l'expérience	
M 3	72 heures	3-3'-4'
M 4	72 »	3'-4'
M 8	120 »	2
A 2	80 »	2-3'-4'
A 3	ne sporule que partiellement sur Gorodkhowa au bout de 9 jours	
A 4	sporule sur Gorodkova au bout de 10 jours, asques à 1 et 2 spores	
P 1	48 heures	formes diverses
P 2	48 »	» »
P 3 (1)	20 »	asques contenant uniquement 2 spores
P 4	90 »	2-3-3', 4'
P 5	140 »	2-3

1. Cette levure P 3 a toujours donné aussi bien sur le milieu Gorodkova que sur blocs de plâtre une sporulation rapide et a toujours formé des asques ne contenant que 2 spores.

Levure	Nombre d'heures nécessaires à la sporulation	Formes principales de la sporulation
P 7	120 »	3', 4'
P 8	n'a pas sporulé dans les conditions de l'expérience	
P 9	ne sporule pas	
P 10	ne sporule pas	
P 11	ne sporule pas	
P 12	36 heures	2-3'
P 13	70 »	2-3', 4', 4''
P 14	24 »	2-3', 4''

5° *Aspect des colonies géantes et caractères divers.* — Ces levures ont été également cultivées par large ensemencement en milieu solide gélatiné à 20° de température de façon à obtenir au bout de 1 mois ou 1 mois 1/2 des colonies largement développées qui, d'après les travaux de Lindner [65], contribuent à caractériser les levures. Une fois bien développées, ces colonies ont été photographiées. Certaines colonies qui dans ces conditions, ont présenté, d'une façon assez constante, des formes particulières, seront indiquées plus loin pour les individus les plus caractéristiques de cette étude.

Enfin, à ce caractère, j'ai joint l'examen de la culture en milieu liquide, la rapidité plus ou moins grande de formation des voiles ou l'absence de ces voiles, la forme et les dimensions des cellules de ces diverses levures.

Afin de ne pas trop multiplier l'énumération de ces différents caractères, ces derniers éléments ne seront cités que pour les levures les plus importantes au cours de leur description générale.

CHAPITRE IV

RELATION ENTRE LES CARACTÈRES DES LEVURES ALGÉRIENNES ET LES CARACTÈRES DE LEUR MILIEU HABITUEL

De l'ensemble des expériences précédentes on peut conclure, d'une façon générale, que les levures des climats chauds, celles d'Algérie en particulier, présentent une activité et une résistance plus prononcées que celles des levures de vinification provenant d'autres régions moins chaudes. Cette remarque concorde d'ailleurs avec les observations faites par M. Catouillard [7 *bis*] de l'Institut Pasteur de Tunis, dans son étude des levures de Tunisie.

Parmi les diverses causes auxquelles on peut attribuer cette activité plus grande, deux ont retenu plus particulièrement mon attention :

1° La composition chimique des moûts algériens, qui peut être plus favorable à la nutrition et à la vie des levures alcooliques ;

2° A une sélection naturelle des ferments effectuée, comme j'en émettais l'hypothèse au début de cette étude, par les conditions climatiques spéciales à l'Algérie : luminosité et température élevées.

Dans une double série d'expériences j'ai donc étudié :

1° La composition chimique des moûts d'Algérie au point de vue des substances azotées, l'utilisation des diverses formes de l'azote de ces moûts par les levures ;

2° La résistance comparée d'un certain nombre de levures algériennes et françaises à la radiation solaire.

AZOTE DES MOÛTS ALGÉRIENS

Composition chimique des moûts algériens au point de vue des substances azotées. — C'est sur les diverses formes de l'azote que j'ai dirigé mes recherches à cause de l'importance bien connue que joue cette substance dans la nutrition des levures [17], [74], [4], [83].

Les analyses ont été effectuées sur 17 moûts de cépages et de provenances différents.

Les éléments dosés ont été : l'*azote total*, par la méthode ordinaire sur 250 cc. de liquide auquel on fait subir la fermentation dans le matras, avant l'attaque par SO^4H^2 , pour se débarrasser de la presque totalité du sucre.

L'*azote ammoniacal*, par distillation de 125 cc. de moût en présence de magnésie calcinée.

L'*azote précipitable* par l'hydrate de protoxyde de cuivre selon Stutzer.

L'*azote non précipitable*, obtenu par différence entre l'azote total et la somme de l'azote ammoniacal et précipitable.

Dans ces conditions, la composition d'un certain nombre de moûts algériens a été la suivante (tableau p. 66) :

L'examen de ce tableau permet de voir que :

1° Les moûts algériens contiennent des quantités notables de substances azotées.

Au maximum 737 milligrammes d'azote par litre.

Au minimum 201 milligrammes d'azote par litre.

En moyenne 405 milligrammes d'azote par litre.
pour les 17 échantillons analysés.

L'influence du cépage ne se manifeste guère sur cette teneur en azote qui varie parfois du simple au double pour le même cépage dans des régions différentes.

La région semble avoir une certaine influence sur la teneur en azote total des moûts. La région Rovigo présente la plus

Azote en milligr. p. litre ou p. 0/0 d'az. total (1)

	Ammoniacal		Non précipitable		Précipitable		Total p. litre
	p. litre	o/o d'az. T	p. litre	o/o d'az. T.	p. litre	o/o d'az. T.	
Cinsault Staouéli . . .	73	14,6	420	84,3	5	1,1	498
Cinsault Rovigo . . .	46	6,2	669	90,8	22	3,0	737
Cinsault Miliana . . .	22	6,2	302	85,5	29	8,3	353
Cinsault Rouiba . . .	46	9,1	447	88,5	12	2,4	505
Aramons Staouéli . . .	39	19,4	143	71,1	19	9,5	201
Aramons Rovigo . . .	36	6,9	475	90,8	12	2,3	523
Aramons Miliana . . .	11	3,7	260	86,9	28	9,4	299
Aramons Rouiba . . .	17	4,1	267	87,8	34	8,1	418
Aramons Héliopolis . .	29	6,2	364	78,3	70	15,5	465
Carignan Staouéli . .	13	4,0	280	86,1	32	9,9	325
Carignan Rovigo . . .	32	6,4	440,5	88,2	27	5,4	449,5
Carignan Miliana . . .	23	5,6	365	89,2	21	5,2	409
Carignan Tipasa . . .	14	4,5	271	86,8	27	8,7	312
Mourvèdre Staouéli . .	34	10,0	275	80,4	33	9,6	342
Mourvèdre Miliana . .	14	4,8	255	88,5	19	6,7	288
Mourvèdre Rouiba . . .	22	4,9	392,5	87,6	23,5	7,5	448
Mourvèdre Tipasa . . .	13	5,0	238	91,2	10	3,8	261

(1) Ces chiffres sont à rapprocher de ceux que M. Pasteur a indiqués pour le taux de l'azote ammoniacal dans les moûts et vins de l'Arbois. Le taux de cette forme azotée varie de 9 milligrammes à 120 milligrammes par litre avant fermentation et de 0 à 5 milligrammes environ après fermentation. Dans ces expériences ce n'est d'ailleurs pas dans le cas ou l'azote ammoniacal était en plus forte proportion qu'il en est resté après fermentation.

Il faut également les rapprocher de ceux de Laborde [61] qui a trouvé les teneurs suivantes dans trois moûts différents.

	Azote de moût		Azote du vin	
	ammoniacal	organique	ammoniacal	organique
Moût n° 1 . .	107,4	432,0	1,0	420,0
„ 2 . .	149,0	425,0	3,3	413,0
„ 3 . .	95,1	325,0	4,5	324,5

grande richesse azotée en même temps dans les cépages (Cinsault-Aramon-Carignan).

La région du littoral (Staouéli et Tipasa) représente quatre sur les six plus faibles teneurs en azote total.

2° La richesse des moûts en azote total est très variable. Elle descend parfois jusqu'à 201 milligrammes par litre et monte à 737 milligrammes par litre.

3° L'azote précipitable n'entre que pour une faible part dans la constitution de l'azote total des moûts. A une exception près (Aramon-Héliopolis) qui en contient 15,5 o/o, cet azote précipitable constitue moins du dixième de l'azote total, sa proportion s'abaissant même au minimum de 1,1 o/o. La moyenne sur les 17 moûts est de 6,8 o/o.

4° L'azote ammoniacal présente également de très grosses variations depuis le minimum de 3,7 o/o au maximum de 19,4 o/o.

Sa valeur moyenne pour les 17 échantillons analysés est de 6,6 o/o. Il n'entre donc que pour une faible part à de rares exceptions près dans la constitution de l'azote des moûts.

5° L'azote non précipitable est, dans tous les cas, la forme d'azote la plus importante dans les divers moûts analysés, sa proportion la plus faible ne descend pas au-dessous de 71,1 o/o, elle peut atteindre le maximum de 91,2, se tenant à la moyenne de 86,6 o/o.

b) *Utilisation de l'azote de moûts différents par une même levure.* — Dans cette expérience j'aiensemencé des moûts différents au moyen d'une même levure (n° 11 d'Algérie) de façon à voir les différences d'utilisation azotée causées par la variation de la composition chimique des moûts.

Quatre moûts de cépages différents : Cinsault, Carignan, Aramon et Mourvèdre, filtrés à la bougie de porcelaine, ont été analysés sous le rapport des substances azotées avant toute fermentation.

Après ensemencement au moyen de la même levure et fermentation complète pendant 15 jours, le dépôt a été recueilli et lavé par centrifugation puis séché et pesé.

Les dosages d'azote ont été faits ensuite par les mêmes méthodes que précédemment :

D'une part sur la levure sèche, au point de vue de l'azote total.

D'autre part, sur le liquide fermenté, au point de vue de l'azote ammoniacal, précipitable et non précipitable.

Les résultats ont été les suivants (tableau p. 68) :

L'examen de ce tableau montre que :

1° *L'azote ammoniacal* a été presque toujours consommé en totalité dans ces fermentations viniques. Dans un seul cas (Cinsault) il est resté une petite quantité d'azote ammoniacal non utilisé. C'est dans le cas où le moût contenait la quantité relativement considérable de 73 milligrammes par litre d'azote ammoniacal. La consommation de cet élément a donc été exceptionnellement de 89 o/o au lieu de 100 o/o qu'elle a été dans les trois premiers moûts.

2° *L'azote précipitable* existe en quantités sensiblement constantes après et avant fermentation. Aucune conclusion ne peut d'ailleurs être dégagée de ce fait. Les conditions de l'expérience ne permettent pas d'établir si une excrétion azotée de la levure n'est pas intervenue (Duclaux).

3° *L'azote non précipitable* a été la source principale de l'azote déposé sous forme de levure, puisque des quantités variant de 30 à 50 o/o de cette forme azotée ont disparu.

4° *Les quantités d'azote* déposées sous forme de levure, dans ces fermentations viniques, ont été sensiblement proportionnelles aux quantités d'azote contenues dans les jus de raisin.

Une seconde expérience résumée dans le tableau ci-après (p. 70) a été effectuée avec les mêmes moûtsensemencés à l'aide d'une levure étrangère (Madère n° 2).

Les résultats de cette seconde expérience sont sensiblement comparables à ceux de l'expérience précédente en ce qui concerne la disparition totale, très rarement partielle, de l'azote ammoniacal, la forte contribution de l'azote non précipitable au dépôt d'azote de la levure, et la proportionnalité du dépôt de levure à la richesse azotée initiale du moût.

Tableau de l'utilisation de l'azote de divers moûts algériens par la levure M_2

Moûts de Staouéli (Alger)	Azote en milligrammes par litre ou o/o									
	Liquide						Levure			
	Ammoniacal		Non précipitable		Précipitable		Azote consommé pour 100 gr. de sucre fermenté	Poids de la levure	Teneur en azote de 1 gr. de levure	Azote levure déposé
	p. lit.	o/o	p. lit.	o/o	p. lit.	o/o				p. lit. o/o
Cinsault avant fermentation	73	14,6	420	84,3	5	1,1	mill.	3,500	61	213,5
» après fermentation	3	1,1	277	96,8	6	2,1	108			42,7
» absorbé . . .	70	95,9	143	34		?				
Aramon avant fermentation	39	19,4	143	71,1	19	9,5				
» après fermentation	0	0	82	82	18	18	46	1,633	59	96
» absorbé . . .	39	100	61	42,6		?				49
Mourvèdre avant fermentation	34	10	275	80,4	33	9,6				
» après fermentation	0	0	150	81,5	34	18,5	68	2,466	60	148
» absorbé . . .	34	100	125	45,4		?				44,6

En résumé, on peut donc confirmer que, dans les fermentations viniques, l'utilisation de l'azote par une même levure est variable selon la composition chimique azotée de ce moût.

c) *Utilisation de l'azote d'un même moût par des levures différentes.* — Enfin, dans une troisième série d'expériences, un moût de composition chimique définie au point de vue de la teneur en sucre et en diverses substances azotées a étéensemencé au moyen de levures différentes.

Au bout d'un temps égal de fermentation pour tous les matras j'ai recueilli pour chacun d'eux :

D'une part, le dépôt de levure pour y doser l'azote.

D'autre part, le liquide de fermentation pour y déterminer la proportion relative des diverses formes de l'azote restant.

De plus, la quantité de sucre disparu ayant varié dans ces divers échantillons, le dosage de cette substance a été fait de façon à ramener les résultats au même poids de sucre transformé.

Ces résultats sont résumés dans les deux tableaux suivants (p. 72 et 73) dont l'examen permet de voir :

1° Que, dans ces fermentations viniques, toutes les levures ont consommé indistinctement la totalité de l'*azote ammoniacal* existant primitivement dans le moût, qu'il s'agisse :

De torulas (n° 6).

De mycoderme (n° P 11).

De levures sans invertine (nos 9 et 16).

De levures ordinaires (les autres).

2° Une très forte proportion d'azote non coagulable a été consommée par les levures mises en expérience.

Abstraction faite pour l'organisme n° 6 (Torula) et l'organisme P₁₁ (mycoderme) cette proportion a varié de 33 mgr. 3 à 54 milligrammes pour 100 grammes de sucre fermenté selon les différentes levures considérées.

3° Des quantités variables (de 31 à 45 o/o) de l'*azote total* initial ont été utilisées pour la formation des levures. Les

Utilisation de l'azote d'un même moût sous l'influence de diverses levures d'origine algérienne

Composition du moût avant fermentation :

Azote ammoniacal . . .	18 milligr. par litre.
Azote non coagulable . . .	256 »
Azote coagulable (Stutzer) . . .	8 »
Total . . .	282 »
Sucre 237 gr. 50	»

Numéro de la levure	Azote déposé sous forme de levure		Azote ammoniacal absorbé		Azote non précipitable absorbé		Azote coagulable		Sucre consommé au cours de la fermenta- tion	Azote consommé pour 100 gr. de sucre fermenté	Azote total du liquide fermenté par litre	Azote non coagulable consommé pour 100 gr. de sucre fermenté
	p. litre	o/o d'Az. T.	p. litre	o/o	p. litre	o/o	avant ferm.	Après ferm.				
									milligr.	milligr.	milligr.	mill.
1 . . .	85	31,1	18	100	84	32,8	8	16	234,95	36,1	188	35,8
6 . . .	55	19,3	»	»	36	14	»	10	133	41,3	230	27
9 . . .	90	31,9	»	»	82	32	»	18	217,60	41,3	192	37,7
10 . . .	106	38	»	»	96	37,5	»	13	232,55	45,6	173	41,3
11 . . .	112	40,3	»	»	99	38,7	»	9	233,85	47,9	166	42,3
12 . . .	101	36,6	»	»	83	32	»	2	225,90	44,7	175	36,7
16 . . .	103	36,1	»	»	95	37,1	»	21	226	45,5	182	42
22 . . .	99	34,8	»	»	84	32,8	»	13	224,50	44,1	185	37,5
23 . . .	113	39,1	»	»	102	39,8	»	22	192,70	58,6	176	52,9
27 . . .	88	31,9	»	»	87	34	»	19	192,70	45,6	188	45,1
31 . . .	111	39,5	»	»	101	39,4	»	15	217,60	51	170	46,3
38 . . .	87	30,9	»	»	80	31,2	»	18	199,50	43,6	194	40

Utilisation de l'azote d'un même moût sous l'influence de diverses levures d'origine étrangère

Composition du moût avant fermentation :

Azote ammoniacal	18 milligr. par litre.
Azote non coagulable (Stutzer).	256 »
Azote coagulable	8 »
Total.	282 »
Sucre 237 gr. 50	»

Dési- gnation de la levure	Azote déposé sous forme de levure		Azote ammoniacal absorbé		Azote non coagulable absorbé		Azote coagulable par litre		Sucre consommé au cours de la fermenta- tion par litre	Azote consommé pour 100 gr. de sucre fermenté	Azote total du liquide fermenté par litre	Azote non coagulable consommé pour 100 gr de sucre fermenté
	p. litre	o/o d'Az. T.	p. litre	o/o	p. litre	o/o	avant ferm.	après ferm.				
	milligr.		milligr.		milligr.		milligr.	mill.	gr.	milligr.	milligr.	milligr.
A ₂	104	37,6	18	100	107	41,8	8	23	233,20	44,8	172	43,9
M ₂	109	38,4	»	»	96	37,5	»	15	233,70	46,6	175	41
M ₈	117	41,2	»	»	104	40,6	»	15	233,65	50	167	44,4
P ₂	85	30,5	»	»	75	29,3	»	18	217,60	39	193	34,3
P ₃	127	43,7	»	»	121	47,2	»	16	224,05	56,7	151	54
P ₁₁	114	40,8	»	»	105	41	»	14	28,50	400	165	375
S ₁	80	29	»	»	76	29,6	»	16	217,60	36,7	196	35
S ₄	91	33,3	»	»	91	35,5	»	17	212,90	42,7	182	42,7
V ₄	95	34,2	»	»	96	37,5	»	23	234,20	40,5	183	41
V ₅	88	31,4	»	»	86	33,6	»	22	191,05	46	192	45

différentes levures ont effectué des consommations variables de cet élément :

De 36 milligr. 1 au minimum
à 58 milligr. 6 au maximum

d'azote total pour 100 grammes de sucre transformé.

4° Les levures algériennes et les levures des autres régions chaudes offrent peu de différences entre elles au point de vue de l'utilisation de l'azote des moûts.

La comparaison des expériences *b* et *c* montre que, dans les fermentations viniques, la quantité d'azote total utilisé pour 100 grammes de sucre transformé varie, à la fois, d'après la richesse en azote du moût et d'après la levure employée ; mais l'influence du moût s'est manifestée ici plus fortement que celle de la levure.

RÉSISTANCE DES LEVURES ALGÉRIENNES A LA RADIATION SOLAIRE

Pour plus de commodité, et pour diminuer les causes d'erreurs dues à l'imperfection des mesures actinométriques, les expériences ont été toujours faites le même jour et dans les mêmes conditions sur des levures prises par paires. Chaque paire comprenant à la fois une levure d'origine algérienne et une levure d'origine française. Les premiers essais montrèrent tout d'abord que, dans les conditions des expériences ici réalisées (milieu liquide), les levures sont peu sensibles à la lumière diffuse.

Même en opérant à la lumière solaire directe, la résistance des levures en milieu liquide est assez élevée pour qu'un retard de départ dans la fermentation ne se manifeste qu'après une exposition assez longue.

Pour rendre l'action de la lumière solaire sur les levures suffisamment sensible dans les conditions des expériences faites cette année, j'ai dû prolonger l'exposition pendant plusieurs heures.

D'autre part, les milieux tant soit peu colorés ou non par-

faitement limpides ont été rejetés. Le milieu de culture choisi fut le milieu de Laurent saccharosé, ou glucosé pour les levures dépourvues d'invertine. Les tubes employés ont été des tubes à essai de petit diamètre (8 millimètres) provenant d'une même fabrication et présentant, par conséquent, une composition sensiblement constante. A défaut de tubes de quartz, sans doute préférables pour de pareilles expériences, j'ai rejeté soigneusement tous les tubes de verre présentant, comme cela arrive très fréquemment, des bulles d'air étirées dans la masse ; ceci afin d'éviter les réflexions possibles de la lumière hors du tube sous l'effet de ces deux milieux juxtaposés.

Pour éviter l'élévation de température qui semble, à première vue, atteindre les limites dangereuses dès que l'on expose un milieu de culture liquide ou solide à l'action directe du soleil, j'ai fait, tout au début de ces expériences, quelques tentatives de protection telles que l'interposition d'une lame de verre bleu, un fin ruissellement d'eau fraîche sur les parois des tubes. J'ai employé également l'immersion totale des tubes de culture dans l'eau. Dans tous les cas, ainsi que l'avait fait observer Duclaux dans son étude de l'action de la lumière sur les microbes, l'activité lumineuse était diminuée trop fortement et même abolie.

L'emploi d'un ventilateur lançant un courant d'air sur l'ensemble des tubes m'a donné de meilleurs résultats en ce sens que l'activité lumineuse ne fut pas sensiblement diminuée, mais, l'action de ce réfrigérant est trop irrégulière pour qu'on puisse l'employer utilement dans ces expériences. La réfrigération n'est pas la même aux divers endroits de la colonne d'air en mouvement. De plus, un vent même faible déplace facilement cette colonne en rendant l'action réfrigérante encore plus irrégulière.

D'ailleurs, l'élévation de température est relativement faible à condition d'éviter les journées où l'air lui-même est très chaud (sirocco) et à condition également d'éviter de mettre en contact les tubes et les milieux de culture solides avec des

surfaces emmagasinant la chaleur par leur nature ou leur couleur (Figure 2).

Dans les conditions de mes expériences de l'été 1913, l'élévation de température observée en plein soleil n'a jamais dépassé $33^{\circ} 1/2$ (la température initiale la plus basse ayant été $24^{\circ} 1/2$). Cette différence maxima de 9° n'a pas été dépassée même sur milieu solide grâce sans doute à ce que les milieux étaient toujours suspendus en plein air sans contact avec le support, et que, d'autre part, j'ai été favorisé par une série de journées très lumineuses, de valeurs actinométriques (1) très sensiblement égales, mais en même temps relativement fraîches.

Ces premières expériences en milieux liquide furent suivies de deux séries d'essais, dans lesquels les mêmes levures que précédemment furent exposées à l'action des rayons solaires après avoir été étalées en couche mince sur des blocs de plâtre : d'abord maintenus humides par une couche d'eau stérile placée au fond de la boîte de Pétri qui les contenait, puis à l'état sec, de façon à se rapprocher un peu des conditions naturelles.

D'après les expériences ainsi réalisées, et comme l'a montré M. Martinand [71], il y a déjà longtemps, j'ai vu que, dans les conditions où elles ont été exposées, les levures alcooliques sont généralement des organismes résistant à l'action de la lumière solaire même directe. Au bout d'une journée d'exposition, des levures d'origine française ou indigène sont rarement tuées mais seulement retardées dans leur départ en fermentation. Ce retard ne se manifeste qu'au bout d'un temps assez long ; en général deux heures au moins sont nécessaires.

Ce retard n'augmente pas considérablement avec le temps, puisque des levures insolées pendant un nombre variable

(1) Les mesures actinométriques, dues à l'obligeance des services de l'Observatoire de la Bouzaréah, ont été prises au moyen de l'héliographe de Campbell et de l'actinomètre totalisateur à distillation d'alcool.

d'heures effectuent parfois leurs départs de fermentation dans des temps sensiblement égaux.

Les expériences précitées semblent indiquer une légère supériorité dans la résistance à la lumière solaire des levures indigènes sur les levures originaires de climats normalement moins ensoleillés. En effet, dans la plupart de ces expériences, les levures indigènes subirent un retard de fermentation moins grand que les levures françaises ou bien exigèrent une insolation plus prolongée pour que leur activité fût totalement abolie.

Mais la résistance générale de ces organismes aux radiations lumineuses a rendu ces différences insuffisantes pour qu'il soit possible de conclure dès à présent.

Il n'y a donc dans ces premiers résultats qu'une ébauche d'un travail que je me propose de poursuivre.

CHAPITRE V

ESSAI DE CLASSIFICATION DES LEVURES ALGÉRIENNES DESCRIPTION DES ESPÈCES PRINCIPALES COMPARAISON ENTRE LES LEVURES ALGÉRIENNES ET CELLES DES AUTRES PAYS CHAUDS

Dans cette étude, j'ai suivi les indications données par M. Guilliermond dans sa classification des Levures.

Dans cette classification, on n'admet dans la famille des Saccharomycétées que les levures sporulant. Dans ces conditions, les organismes tels que torulas et mycodermes sont mis en dehors de cette famille, dans un groupe provisoire à part, comme n'offrant aucun caractère permettant de leur assigner une place précise parmi les champignons, même en admettant que ce sont de véritables levures devenues asporogènes.

Dans cette famille des Saccharomycétées on peut établir une division en cinq groupes.

1° Les Schizo-Saccharomyces, caractérisés par un cloisonnement transversal au cours de la multiplication.

2° Les levures présentant un phénomène de copulation iso ou hétérogamique à l'origine de l'asque.

3° Les levures dont la formation d'asques n'est précédée d'aucun phénomène de sexualité, végétant d'abord dans les milieux liquides sous forme de dépôt et ne produisant que plus tard un voile muqueux sans interposition d'air ou ne produisant pas de voile et se multipliant par bourgeonnement.

4° Levures ne présentant pas de sexualité à l'origine de l'asque, mais formant un voile mycodermique très développé. Pas de fermentation alcoolique dans la plupart des cas, mais des éthers.

5° Levures douteuses telles que les *Monospora* et *Nematospora* à caractères spéciaux et affinités mal reconnues.

Le troisième groupe, le plus intéressant pour nous puisqu'il comprend les levures de brasserie, cidrerie, distillerie et vinification, comprend le genre *Saccharomyces* qui est caractérisé par des ascospores à une seule membrane, germant par bourgeonnement, formant quelquefois des rudiments mycéliens.

Le grand nombre des *Saccharomyces* a fait qu'on a divisé ce genre en six sous-groupes selon leur action sur les divers sucres.

1° Sous-groupe : *Saccharomyces* faisant fermenter dextrose, maltose et saccharose et ne faisant pas fermenter lactose.

2° Sous-groupe : *Saccharomyces* faisant fermenter dextrose et saccharose ; inactifs sur maltose et lactose.

3° Sous-groupe : *Saccharomyces* faisant fermenter dextrose et maltose ; inactifs sur saccharose et lactose.

4° Sous-groupe : *Saccharomyces* faisant fermenter dextrose, mais inactifs sur maltose, saccharose, lactose.

5° *Saccharomyces* faisant fermenter le lactose.

6° Sous-groupe : *Saccharomyces* ne produisant pas de fermentation ou dont les caractères de fermentation sont insuffisamment connus.

On voit que la classification des levures comporte, au début, une étude morphologique approfondie, comprenant la présence ou l'absence de caractères de sexualité au moment de la formation de l'asque.

L'étude que j'ai tentée sur quelques levures algériennes a été plutôt une étude des propriétés physiologiques que des caractères morphologiques ; cependant, je crois pouvoir classer les saccharomycétées étudiées dans le troisième groupe, non seulement parce que je n'ai jamais constaté de phénomène de

sexualité au début de la formation de l'asque, mais aussi, parce que ces organismes répondent bien aux autres caractères du genre *Saccharomyces* (Bourgeonnement. Dépôt au fond des liquides nutritifs. Voile tardif ou pas de voile. Fermentation active avec forte production d'alcool. Action sur les divers sucres. Origine, etc...).

Dans ces conditions, la plupart des levures étudiées précédemment et recueillies dans les trois départements d'Algérie appartiennent à la famille des *Saccharomycétées*.

En effet, dans deux de ces organismes seulement nous n'avons jamais pu observer de sporulation :

Ce sont les n^{os} 6 et 33.

Toutes les autres peuvent être considérées comme des *Saccharomyces*.

Mais ces *Saccharomyces* peuvent être divisés en deux catégories d'après leur action sur les divers sucres :

Les levures 9, 15, 16 et 25 faisant fermenter le dextrose, le maltose et étant sans action sur le saccharose et le lactose peuvent être classées dans le troisième sous-groupe des *Saccharomyces*.

Toutes les autres levures, c'est-à-dire de 1 à 5, de 7 à 8, de 10 à 14, de 17 à 24, de 26 à 32 et de 34 à 39, appartiennent au premier sous-groupe des *Saccharomyces* puisque, sans action sur le lactose, elles font fermenter les saccharose, dextrose et maltose.

Ce sont ces dernières qui, au point de vue industriel, sont les plus importantes, et ce sont celles que je devais trouver le plus fréquemment vu les conditions dans lesquelles les prélèvements, isollements et expériences ont été faits.

Saccharomyces, ellipsoideus d'Algérie n° 11

Originaire d'une lie rouge de 1910 de Tipasa (littoral du département d'Alger).

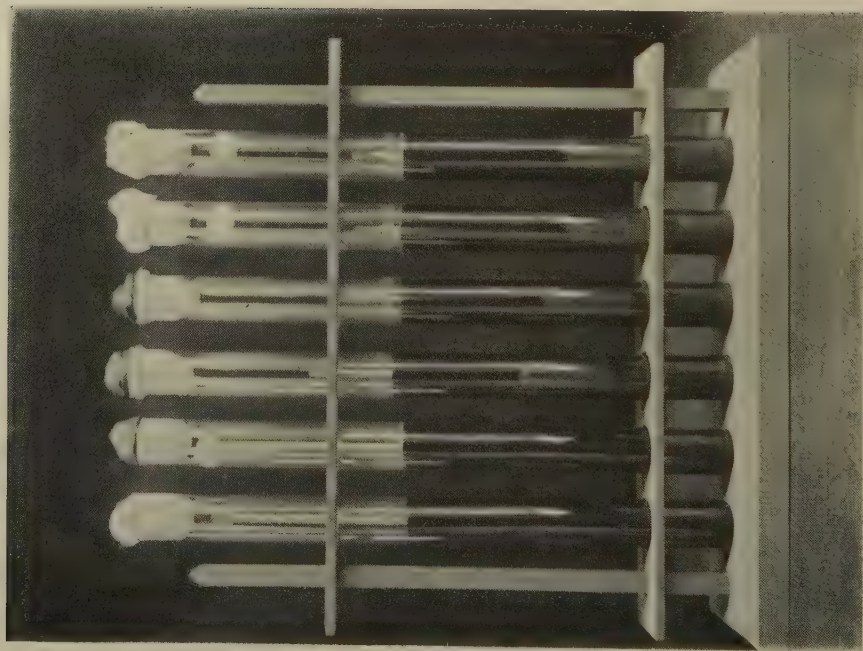


FIG. 1. — Fermentations en tubes à mustimètres.

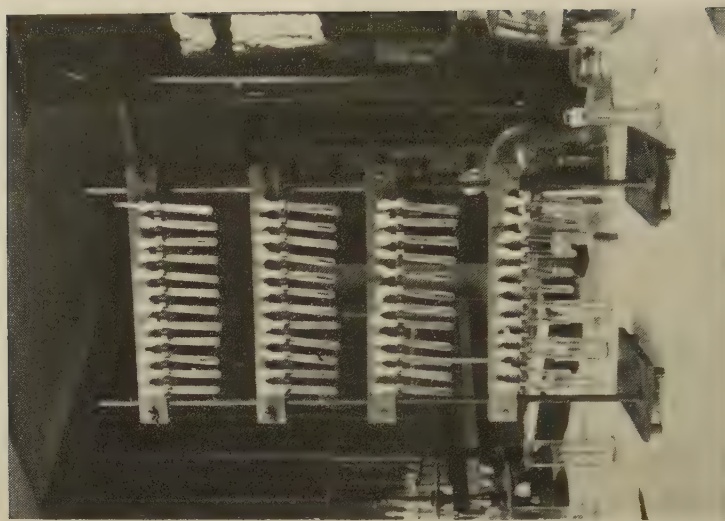


FIG. 2. — Dispositif pour l'exposition au soleil des cultures liquides.

Colonies
sur milieu

géantes
gélatiné.

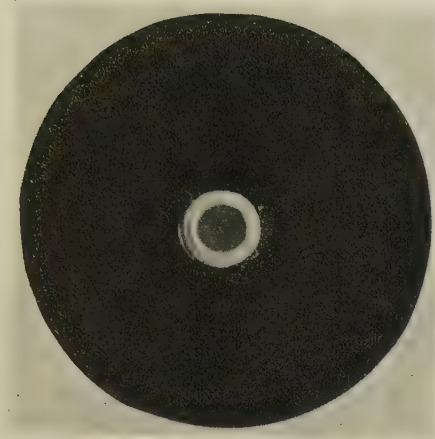


FIG. 3.

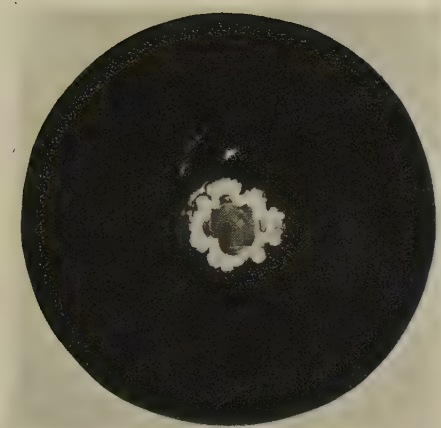


FIG. 4.

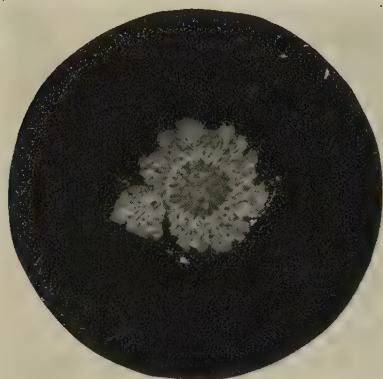


FIG. 5.

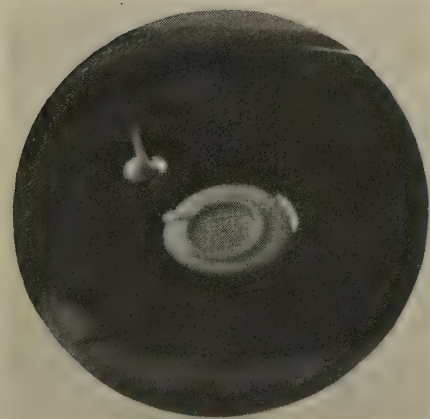


FIG. 6

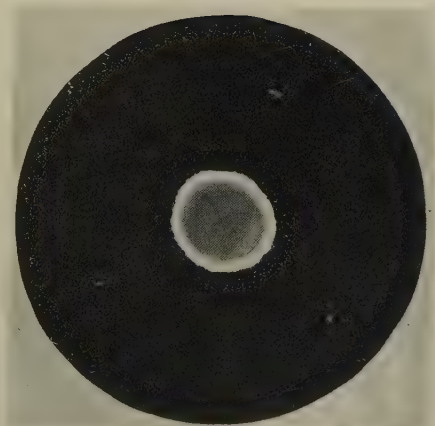


FIG. 7.

on trouve un certain nombre d'organismes dont les propriétés s'écartent un peu du type n° 11.

Les principales différences que j'ai observées sont données par la levure M_2 (Madère) dont le pouvoir alcoogène s'est montré plus élevé : 17°6 au laboratoire et plus de 19° en moût de raisins frais. Cette propriété est accompagnée d'une résistance moindre à l'acidité.

Plusieurs levures présentent des colonies géantes d'aspect particulier (fig. 5), ou une sporulation spéciale telle la levure portugaise P_3 qui, d'une façon constante sur différents milieux, sporule rapidement en donnant toujours deux spores par asque.

Saccharomyces algérien n° 9

Originaire de raisins d'Alicante Médéah (département d'Alger).

Formes petites de 5 à 6 μ se rapprochant de l'ellipse.

Sporule assez rapidement sur bloc de plâtre à 25° (de 60 à 72 heures) en donnant une grande majorité d'asques à trois spores.

Sur milieu gélatiné, la colonie géante déprime fortement la gélatine. La partie annulaire se surélevant donne l'aspect d'un cratère. Les bords ondulés sont très irréguliers (fig. 4 et 5).

En culture liquide, elle donne un voile annulaire assez faible et un dépôt adhérent au fond des vases.

Résistance à l'acidité élevée : elle fermente rapidement en milieux à 3 1/2 o/o d'acide tartrique.

Pouvoir alcoogène moyen : 10° environ.

Elle consomme des quantités assez élevées de sucre à la température de 38° (80 gr. o/o environ).

Son coefficient d'utilisation du sucre est assez faible (16 gr. 70 dans les conditions normales d'expérience).

Elle produit une assez faible quantité d'acidité volatile (0 gr. 40 o/oo environ).

Elle ne résiste que pendant 5' à la température de 55° en milieux aqueux.

Active sur les dextrose, lévulose et maltose, elle est inactive sur le lactose et le saccharose. Cette levure se rapproche donc du *Saccharomyces Rouxii* de Boutroux.

Il en est de même des *Saccharomyces* algériens nos 15 et 16 qui ont tous deux comme origine des plants de Carignan de Rouïba (département d'Alger).

J'ai cru devoir décrire en détail cette levure à cause de sa diffusion relativement grande dans certains vignobles algériens. Il m'est arrivé plusieurs fois de trouver, dans certains domaines, une grande majorité de ces ferments alcooliques sans invertine. Certains cépages portaient uniquement cette levure. On peut donc admettre que cet organisme participe à certaines fermentations viniques dont le résultat médiocre pourrait être expliqué par certaines propriétés insuffisantes de la levure n° 9 et voisines.

Enfin, deux organismes, parmi ceux trouvés en Algérie, se distinguent nettement de tous les autres. Ce sont les organismes 6 et 33 qui, ne présentant pas le phénomène de la sporulation, doivent être mis en dehors de la famille des Saccharomycétées.

Leur forme petite et allongée pour le n° 6, ronde pour le n° 33, l'absence de voile, les rapproche des *Torula* plutôt que des *Mycodermes*.

Leur culture en milieu solide donne une colonie d'aspect tout particulier (figure 7).

Leurs origines sont respectivement :

(6) Un plant de Mourvèdre-Miliana (département d'Alger).

(33) Un plant d'Alicante-Souk-Arhas (département de Constantine).

Leur résistance à l'acidité tartrique est très grande surtout pour la *Torula* n° 6 qui part en 30 heures indistinctement dans les moûts à 1, 1 1/2, 2, 2 1/2, 3 et 3 1/2 o/o d'acidité tartrique.

La *Torula* 33 part en 95 heures dans les milieux de 1 1/2 à 3 o/o d'acidité.

Leur pouvoir alcoogène est faible n° 6 = 4°6, n° 33 = 7°2.

La consommation du sucre à 38° est nulle pour l'une et l'autre.

Leur coefficient d'utilisation du sucre est très élevé : n° 6 = 19 gr. 1, n° 33 = 18 gr. 49.

La proportion d'acidité volatile produite est assez élevée :

n° 6 = 1 gr. 32 o/oo n° 33 = 1 g. 13 o/oo.

La courbe de distillation fractionnée de cet acide selon Duclaux est intermédiaire entre celle des acides propionique et acétique :

Leur résistance à la chaleur est assez faible ; n° 6 : 10 minutes à 45°, n° 33 : 10 minutes à 50°.

La *Torula* n° 6 fait fermenter le saccharose, le dextrose, le lévulose, mais reste inactive sur le lactose et le maltose. La *Torula* n° 33 n'est active que sur le dextrose et le lévulose en restant inactive vis-à-vis des saccharose, maltose et lactose.

Dans son travail sur les *Torulas* de Pasteur, Hansen [39] admet que certaines *Torulas* participent à la fermentation du vin. Le fait semble être confirmé par la diffusion de ces organismes dans certaines régions, pendant certaines années. Pendant les années 1908 et 1909 un vignoble de M... (département d'Alger) présentait une telle majorité des *Torulas* sur ses ceps qu'on pouvait considérer la vendange comme uniquementensemencée par ces organismes qui ne produisaient que des fermentations très lentes et restant inachevées même au bout de plusieurs mois. Le même fait se reproduisit dans un autre vignoble de la même région en 1911 où diverses grappes d'un même cépage (Mourvèdre) ne donnèrent aucun organisme autre que la *Torula* n° 6. On conçoit dans ce cas les mauvais résultats obtenus par de telles fermentations puisque ces organismes sont lents, peu résistants à la chaleur et à l'alcool, et donnent une acidité volatile beaucoup plus élevée que le *Saccharomyces ellipsoïdeus*.

Au cours de mes prélèvements dans le vignoble algérien j'ai pu constater la présence de divers organismes, en dehors de ceux précédemment décrits et qui constituent les espèces prédominantes.

Parmi eux, j'ai trouvé un certain nombre de mycodermes bien caractérisés dont la propriété générale semble être de fournir, eux aussi, des quantités notables d'alcool; quantités égales ou même supérieures, dans certains cas, à celles que l'on admet généralement.

Enfin, un organisme que l'on a habitude de rencontrer fréquemment au cours de recherches semblables — la levure apiculée — ne s'est, au contraire, montré que très rarement dans mes cultures.

J'ai dû, malgré mon désir d'élucider ces deux questions, me limiter et poursuivre encore mes recherches à ce sujet avant de conclure.

L'étude des diverses levures algériennes et celles des levures étrangères m'a permis d'établir entre elles certaines comparaisons pouvant avoir un intérêt pratique.

Les résultats moyens fournis par 30 levures provenant du département d'Alger, 20 levures provenant du département d'Oran, et 17 levures provenant du département de Constantine sont résumés de la façon suivante :

	Pouvoir alcoogène à 25°	Sucre consommé à 38 o/o	Acidité volatile produite o/oo	Rapport sucre alcool
Département d'Alger .	11°64	7,13	0,413	17,01
Département d'Oran. .	11°79	4,96	0,685	17,35
Département de Cons- tantine. .	13°29	9,83	1,060	17,26
Moyenne de 67 levures étudiées .	12°24	7,30	0,719	17,207

Les résultats moyens fournis par 17 organismes provenant du Portugal (abstraction faite des ferments P₁₀ et P₁₁ qui présentent plutôt les caractères de mycodermes), 9 levures de Madère, 7 levures siciliennes, et 5 levures de Valence, sont les suivants :

	Pouvoir alcoogène à 25°	Sucre consommé à 38°	Acidité volatile o/oo	Rapport sucre alcool
Levures d'origine sicilienne . . .	11°81	2,59	0,155	16,72
Levures prove- nant de Valence.	13°62	4,06	0,585	16,24
Levures prove- nant de Madère.	14°69	8,51	0,554	17,28
Levures d'origine portugaise . . .	12°02	7,79	0,760	16,34
En moyenne . .	13°03	5,74	0,513	16,89

Et enfin, si l'on compare les chiffres moyens présentés par les levures d'Algérie et par les levures étrangères on obtient les différences suivantes :

	Pouvoir alcoogène à 25° —	Sucre consommé à 38° —	Acidité volatile o/oo —	Rapport sucre alcool —
Levures algérien- nes	12°24	7,30 o/o	0,719	17,21
Levures étrangè- res	13°03	5,74 o/o	0,513	16,89

D'après ces divers chiffres, les levures des climats chauds semblent avoir une certaine supériorité sur les levures algériennes. En effet, sauf pour la quantité de sucre consommé à 38° qui est plus élevée sous l'influence des levures algériennes, les ferments viniques étrangers que j'ai pu étudier ont un pouvoir alcoogène sensiblement plus élevé, ils forment une quantité d'acidité volatile plus faible, et transforment le sucre fermentescible en alcool avec un coefficient de consommation plus faible.

CHAPITRE VI

FIXITÉ RELATIVE DES CARACTÈRES DES LEVURES CONSERVÉES DANS LE LABORATOIRE

L'étude de l'action des levures sur les divers sucres permet de constater que la présence ou l'absence d'invertine, l'activité ou l'inactivité de ces levures sur certains sucres, constitue bien un caractère spécifique. Ce caractère n'a pas été le seul présentant une fixité assez grande pour servir à l'identification des organismes étudiés. On admet, en général, que les levures étudiées et conservées dans le laboratoire ne présentent que des propriétés assez fugaces, pouvant même varier au cours de l'étude. Pour conserver plus sûrement ces propriétés, il est nécessaire d'avoir recours à des procédés de culture particuliers comme de maintenir la levure dans de l'eau saccharosée neutre renouvelée jusqu'à ce que l'organisme n'effectue plus aucune fermentation dans ce milieu.

La durée des expériences que j'ai effectuées sur les levures est trop courte (quatre ans) pour que l'on puisse en tirer une conclusion précise, mais il me semble intéressant de signaler que, pendant ce laps de temps, certains caractères n'ont pas varié d'une façon sensible chez des organismes conservés sans précautions spéciales, cultivés en milieu liquide naturel (jus de raisin) et repiqués régulièrement tous les trois mois.

Dans ces conditions j'ai pu constater une fixité assez grande pour les caractères suivants :

1° *Pouvoir alcoogène.* — La différence entre les levures capables de donner de forts rendements d'alcool et celles ne donnant que de petits degrés est restée constante. Que la culture ait lieu en tubes à essais, grands tubes à mustimètre ou matras de volumes divers, la marche de la fermentation permet d'établir, pour les diverses levures, des courbes qui affectent des formes le plus souvent caractéristiques. Jamais la forme générale de ces courbes et surtout leurs dispositions relatives (courbes des pouvoirs alcoogènes faible, moyen et fort) n'a éprouvé de variation notable.

2° *Résistance à l'acidité.* — Il en est de même pour la rapidité plus ou moins grande du départ de la fermentation dans des milieux d'acidité tartrique plus ou moins élevée. Au cours des expériences précédentes, les levures étudiées ont montré des différences sensiblement constantes dans leur résistance à l'acidité des milieux.

3° *Quantité d'acidité volatile produite.* — On admet généralement que ce facteur varie d'une façon assez grande selon les conditions de l'expérience. Des conditions défavorables à l'existence de la levure augmentent la quantité d'acidité volatile produite. Dans mes expériences le taux de cette acidité volatile est resté sensiblement constant dans des conditions de culture voisines.

4° La forme des colonies en milieu solide (gélatine) s'est montrée constamment différente selon la nature et même l'origine des levures. Les levures présentant les caractères des *Saccharomyces ellipsoideus* forment des colonies d'un blanc nacré à surface lisse un peu plus foncées vers le centre à contour circulaire ou légèrement ondulé (fig. 3).

Les levures 9 et 16 au contraire, c'est-à-dire celles qui dans cette étude ont montré des caractères analogues à ceux du *Saccharomyces Rouxii*, présentent en milieu gélatiné des colonies à surface fortement plissée et à bords découpés (fig. 4 et 5) et cela d'une façon assez constante pour permettre

de reconnaître, à ce simple aspect de la colonie en milieu solide, les levures qui, parmi celles d'Algérie, ne font pas fermenter le saccharose.

Enfin, dans les conditions des expériences précédentes, certaines levures étrangères ont montré une tendance à former, à côté de la colonie géante, de petites colonies à partie centrale surélevée affectant parfois la forme de la figure 5. Je n'ai jamais constaté cette formation dans les colonies provenant de levures algériennes.

5° La formation plus ou moins rapide du voile ou son absence, la forme de ce voile, la consistance et l'adhérence du dépôt ont constitué également des caractères assez constants au cours de mes expériences.

6° Le nombre des spores a été, parfois aussi, caractéristique. En général les diverses levures étudiées ici présentaient des asques à 2, 3 ou 4 spores. Une des levures provenant du Portugal (P_3) a fait exception à cette règle; et, placée dans les mêmes conditions que les autres, elle n'a jamais donné que des asques à deux spores. Ce caractère permettait à lui seul de la distinguer au milieu de toutes les autres.

Il serait donc intéressant de poursuivre ces essais et de voir quelle fixité réelle ces divers caractères peuvent atteindre en cultivant la levure toujours dans le même milieu (moût de raisin à 25°) et pendant combien de temps ou combien de passages dans ce milieu les caractères de la levure peuvent se maintenir fixes.

CHAPITRE VII

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Au cours de cette étude, j'ai isolé 70 levures environ provenant de régions viticoles importantes des trois départements algériens et 40 levures environ provenant d'autres régions à température relativement élevée ou produisant des moûts riches en sucre telles que la Sicile, l'Espagne, le Portugal et l'île de Madère.

Pour tous ces organismes, l'aspect microscopique, l'aspect de leur culture en milieu liquide, les essais de fermentation à 35° de température et dans des milieux d'acidité croissante m'ont permis de conserver tout d'abord un certain nombre d'entre eux qui ont été soumis à une seconde sélection comportant les essais suivants : résistance à l'acidité et à l'alcool, fermentation à température élevée et étude chimique de la fermentation effectuée par ces levures.

Ces caractères biologiques ont été indiqués pour les levures les plus intéressantes de Miliana, Margueritte, Médéah, La Bouzaréah, Rouïba, Ténès, Tipasa et Port-Gueydon dans le département d'Alger.

Pour Oran, Sidi-Chami, Mascara, Rivoli, Tlemcen et Tlemcen-Mansourah dans le département d'Oran.

Pour Guelat-bou-Sba, Héliopolis, Souk-Ahras, Batna et Lambèze dans le département de Constantine.

Ces résultats ont été également indiqués à titre comparatif

pour les levures les plus intéressantes de Sicile, d'Espagne, de Madère et du Portugal.

Pour ces organismes principaux, j'ai procédé à une étude complémentaire afin de déterminer d'autres caractères biologiques ou morphologiques tels que :

La résistance à la chaleur en milieu aqueux,

La nature de l'acidité volatile produite,

La nature des sucres susceptibles de fermenter sous l'action de ces levures,

La sporulation,

La forme des colonies géantes, des voiles,

Les dimensions des cellules, etc.

Ces expériences ont indiqué que :

1° Les diverses régions vinicoles algériennes sont peuplées de ferments alcooliques caractérisés, d'une façon générale, par une résistance marquée aux divers agents.

a) Ces ferments algériens sont, en général, à fort pouvoir alcoogène.

b) Leur résistance à l'acidité est également bien marquée.

c) Ils sont, en général, capables de consommer des proportions notables de sucre à des températures élevées telles que 38°.

d) Ils résistent, en milieu aqueux, à des températures de 50 à 55° pendant 5 et 10 minutes.

Dans un chapitre spécial j'ai étudié les relations qu'il peut exister entre cette résistance des levures algériennes et les caractères de leur milieu habituel au double point de vue de la composition chimique azotée des moûts d'Algérie et de l'action des radiations solaires sur les levures.

Ces expériences ont indiqué que :

1° Au point de vue de l'azote.

a) Les moûts algériens contiennent des quantités normales de substances azotées dont une partie seulement (ordinairement moins de la moitié) est consommée par la levure.

b) Des trois formes de cet azote : précipitable par l'hydrate de protoxyde de cuivre — non précipitable — ammoniacale,

les deux dernières formes, c'est-à-dire les plus dégradées, représentent 93,2 0 0 de l'azote total (moyenne de 17 échantillons de jus de raisin d'Algérie).

c) Au cours de la fermentation vinique.

L'azote ammoniacal est le plus souvent employé en totalité.

L'azote organique non précipitable par l'hydrate de protoxyde de cuivre représente la différence entre la totalité de l'azote utilisé par la levure et l'azote ammoniacal.

Quand la proportion d'azote ammoniacal dépasse une certaine limite, les deux formes : ammoniacale et organique non coagulable, sont utilisées en même temps; une certaine dose d'azote ammoniacal peut même exister encore après fermentation complète.

Les particularités de la composition chimique azotée des moûts algériens expliquent sans doute pour une large part l'activité particulière des levures qui y prédominent au moment des vendanges.

2^e Sous le rapport de l'action des radiations solaires sur les levures, les conditions des expériences ont indiqué que ces organismes sont résistants à cet agent physique et que cette résistance a été parfois un peu plus accentuée chez les levures algériennes que chez les levures d'origine française. Ces expériences ne constituent d'ailleurs que le début de nouvelles recherches à poursuivre.

Dans le chapitre suivant je me suis basé sur les divers caractères des organismes étudiés pour en effectuer une classification selon la méthode de Hansen modifiée par Guilliermond. D'après les caractères de sporulation, d'activité fermentaire sur les divers sucres, j'ai été amené évidemment à rattacher la plupart des levures algériennes au genre *Saccharomyces*, sous-groupe des ferments intervertissant le saccharose tels le *S. ellipsoideus*. Mais j'ai dû également rapprocher un certain nombre de levures algériennes du sous-groupe des ferments non actifs sur le saccharoses tels que le *S. Rouxii*, en indiquant que ce dernier organisme se trouve assez répandu

dans la campagne algérienne pour qu'il soit considéré comme pouvant intervenir dans les fermentations viniques.

J'ai décrit également certaines *Torulas* qui se sont rencontrées assez fréquemment en Algérie pour prédominer parfois dans la flore des ferments de certains vignobles. J'ai signalé enfin sur les vignes algériennes l'existence de certains *Mycodermes* possédant un notable pouvoir alcoogène.

La comparaison des levures algériennes avec les levures des autres régions chaudes ou produisant des moûts riches en sucre indique que la fermentation vinique pourrait sans doute être améliorée en Algérie en ensemençant les moûts au moyen de levures de Portugal, Sicile, Espagne, Madère, à condition bien entendu qu'un essai pratique préalable ait permis de constater l'absence de bouquet anormal produit par cette fermentation artificielle.

L'amélioration pourrait donner :

- a) Un pouvoir alcoogène peut-être plus élevé ;
- b) Une quantité d'acides volatils peut-être plus faible ;
- c) Un coefficient d'utilisation du sucre peut-être plus économique.

En ce qui concerne la formation d'alcool en présence d'une température relativement élevée (38°) les levures algériennes se sont au contraire montrées plus résistantes que les levures étrangères.

Certains caractères comme le pouvoir alcoogène, la production quantitative d'acidité volatile, la forme du voile ou son absence, la forme de l'asque, ont souvent une fixité suffisante, dans les conditions d'expériences ordinaires du laboratoire, pour permettre, pendant plusieurs années, la caractérisation et l'identification de certaines variétés de levures.

Institut Pasteur d'Algérie.

Alger, 30 septembre 1913.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Ann. B. et D. : *Annales de Brasserie et de Distillerie.*

Ann. I. P. : *Annales de l'Institut Pasteur.*

Bull. I. P. : *Bulletin de l'Institut Pasteur.*

C. R. A. S. : *Comptes rendus de l'Académie des Sciences.*

C. R. Carlsberg : *Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg.*

Rev. Vit. : *Revue de Viticulture.*

- (1) BEAUVERIE (J.), 1912. — Les méthodes de biométrie appliquées à l'étude des levures, *Ann. B. et D.*
- (2) BERLESE (A.), 1897. — Verhalten der Saccharomyceten an den Weinstöcken, über die Verteilung der Alkoholischen Fermenten in der Natur. Ueber die Transportmittel der Alkoholischen Fermenten in der Natur., *Rivista di patol. vegetale.* V.
- (3) BOLTENSTERN, 1910. — Sur la détermination de l'activité de la levure, influence de la qualité du sucre. *Brennerei Ztg.*
- (4) BOTTU (H.), 1908. — La nutrition azotée de la levure (*Thèse Pharmacien supérieur*, Paris).
- (5) BOULLANGER, 1896. — Contribution à l'étude de quelques levures, *Ann. I. P.*
- (6) BRUNET (R.), 1912. — L'analyse et la constitution du raisin, *Rev. Vit.*
- (7) BURRI (R.). — Méthode simple, avec le contrôle du microscope, de culture pure à partir de cellules isolées, *Bull. I. P.*, t. VI.
- (7 bis) CATOULLARD (G.), 1906. — Etudes de quelques levures sélectionnées employées pour la vinification, *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis.*
- (8) DE KRUYFF (E.), 1908. — Untersuchungen über auf Java einheimische Hefenarten, *Centralbl. f. Bakt.*
- (9) DESCOFFRES, 1904. — Les Levures œnogènes des Charentes, *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Bordeaux.
- (10) DIENERT (FR.), 1900. — Sur la fermentation de la galactose et sur l'acoutumance des levures à ce sucre, *Ann. I. P.*
- (11) DUBOURG (E.), 1899 — De la fermentation des saccharides, *C. R. A. S.*
- (12) DUCLAUX (E.), 1888. — Sur la recherche des alcools supérieurs, *Ann. I. P.*
- (13) DUCLAUX (E.), 1889. — Sur la conservation des levures, *Ann. I. P.*

- (14) DUCLAUX (E.), 1889. — Note sur la formation des spores dans la levure, *Ann. I. P.*
- (15) DUCLAUX (E.), 1892. — Sur les fermentations de sucres divers (critique), *Ann. I. P.*
- (16) DUCLAUX (E.), 1896. — Pouvoir ferment et activité d'une levure, *Ann. I. P.*
- (17) Duclaux (E.), 1900. — Traité de Microbiologie, Paris.
- (18) EFFRONT (J.), 1908. — Action de la Levure de bière sur les acides amidés, *C. R. A. S.*, CXCVI.
- (19) EHRLICH (F.). — Sur la production de l'acide succinique dans la fermentation alcoolique. Analyse in *Bull. I. P.*, t. VII.
- (20) EHRLICH (F.), 1908. — Ueber die Spaltung racemischer Aminosäuren mittels Hefe, *Biochem. Zeitschr.*, VIII.
- (21) ELION (H.), 1893. — Studien über Hefe, *Centralbl. für Bakt.*, XIV.
- (22) ENGEL, 1872 — Les ferments alcooliques, *Thèse Doct. ès sciences*, Paris.
- (23) FERNBACH (A.), 1890. — Sur l'invertine ou sucrase de la levure, *Ann. I. P.*
- (24) FERNBACH (A.), 1910. — L'emploi des levures sélectionnées en vinification, *Ann. B. et D.*
- (25) FERNBACH (A.) et LANZENBERG (A.), 1910. — De l'action des Nitrates sur la fermentation alcoolique, *C. R. A. S.*, CLI
- (26) FERNBACH (A.), 1911. — Sur le mécanisme de la fermentation alcoolique, *Ann. B. et D.*
- (27) FERNBACH (A.), 1911. — Les pertes en alcool par évaporation pendant la fermentation, *Ann. B. et D.*
- (28) FERNBACH (A.), 1912. — A propos de l'acidité des moûts, *Ann. B. et D.*
- (29) FERNBACH (A.), 1913. — L'acidification des moûts par la levure au cours de la fermentation alcoolique, *Ann. B. et D.*
- (30) FERNBACH (A.), 1913 — L'augmentation d'acidité produite par la levure au cours de la fermentation alcoolique, *Ann. B. et D.*
- (31) GAYON (U.), 1911. — Sur l'emploi des levures sélectionnées dans la fermentation des moûts de raisin, *Rev. Vit.*
- (32) GAYON (U.) et DUBOURG (E.), 1912. — Recherches sur la vitalité des Levures, *Ann. D. et B.*
- (33) GEIGER (A.), 1910. — Beiträge zur Kenntniss der Sprosspilze ohne Sporenbildung, *Centr. für Bakter.*
- (34) GORODKOWA (A.), 1908. — Ueber das Verfahren rasch die Sporen von Hefepilzen zugewinnen, *Bull. Jard. Imp. Bot. Petersbourg.*
- (35) GUILLIERMOND (A.), 1901. — Recherches histologiques sur la sporulation des levures, *C. R. A. S.*
- (36) GUILLIERMOND (A.), 1902. — Cytologie des levures, *Thèse de Doctorat ès sciences*, Paris.
- (37) GUILLIERMOND (A.), 1912. — Les Levures, *Encycl. scient.* Doin.
- (38) HANSEN (E. CHR.), 1881. — Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques, sur le *S. apiculatus* et sa circulation dans la nature, *C. R. Carlsberg.*

- (39) HANSEN (E. CHR.) 1883. — Sur les *Torulas* de M. Pasteur, *C. R. Carlsberg*.
- (40) HANSEN (E. CHR.), 1886 — Recherches sur la physiologie et la morphologie des Levures. Méthodes pour obtenir des cultures pures de *Saccharomyces*, *C. R. Carlsberg*.
- (41) HANSEN (E. CHR.), 1888. — Action des ferments alcooliques sur les diverses espèces de sucre, *C. R. Carlsberg*.
- (42) HANSEN (E. CHR.) 1890 — Nouvelles recherches sur la circulation du *S. apiculatus* dans la nature, *Ann. des Sc. Nat. Bot.*
- (43) HANSEN (E. CHR.), 1898. — Ueber die Variation bei den Bierhefepilzen und bei anderen Saccharomyceten, *Centralbl. für Bakt.*
- (44) HANSEN (E. CHR.), 1903. — Neue Untersuchungen über den Kreislauf den Hefearten in der Natur, *Centralbl. f. Bakt*
- (45) HANSEN (E. CHR.), 1904. — Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten, *Centralbl. für Bakt.*
- (46) HANSEN (E. CHR.), 1911 — Nouvelles recherches sur la circulation des Levures dans la nature, *Anal. in Bull. I. P*
- (47) HARDEN (A.), 1911. Recherches récentes sur la fermentation alcoolique, *Ann. B. et D.*
- (48) HARDEN (A.) et NORRIS (R.), 1910. — The fermentation of Galactose by yeast and yeast juice, *Proced. Royal Society*.
- (49) HEIZOG (R.), 1903. — Zur Biologie der Hefe, *Zeitschr. für physiol. Chemie*, XXXVII.
- (50) JACQUEMIN, 1910. — Les fermentations rationnelles, Nancy.
- (51) JÖRGENSEN (A.), 1896. — Der Ursprung der Weinhefen, *Centr. f. Bakter.*
- (52) KAYSER (E.), 1889 — Action de la chaleur sur les levures, *Ann. I. P.*
- (53) KAYSER (E.), 1892 à 1896. — Contribution à l'étude des levures de vin, *Ann. I. P.*
- (54) KAYSER (E.). — Influence des agents physiques et chimiques sur les levures, *Rev. Vit.*, t. XXXVI, p. 89.
- (55) KAYSER (E.), 1906. — Les Levures, *Encycl. Aide-Mémoire Léauté*.
- (56) KAYSER et BARBA, 1896. — Contribution à l'étude des Levures de vin, *Bull. Minist. Agriculture*.
- (57) KAYSER et BARBA, 1895 à 1901. — Expériences de vinification dans le Gard, *Bull. Minist. Agriculture*.
- (58) KLÖCKER (A.), 1909. — La formation des enzymes dans les ferments alcooliques peut-elle servir à caractériser l'espèce, *C. R. Carlsberg*.
- (59) KOCHMANN. Influence de l'alcool éthylique sur l'activité de la levure, *Anal. in : Bull. I. P.*, t. VII.
- (60) KOHL (G.), 1908. — Die Hefepilze, Leipzig.
- (61) LABORDE, 1898. — Contribution à l'étude de l'azote contenu dans le vin, *Ann. I. P.*

- (62) LABORDE (J.), 1911. — Sur la sélection des levures de vin, *Ann. B. et D.*
- (63) LEBEDEF, (A.). — Sur le mécanisme de la fermentation alcoolique, *C. R. A. S.*, t. CLIII.
- (64) LECHARTIER, 1874. — De la fermentation des fruits, *C. R. A. S.*
- (65) LINDNER (P.), 1893. — Das Wachstum der Hefen auf festen Nährböden, *Wochenschr. f. Brau.*, X.
- (66) LINDNER (P.) et SAITO (K.), 1910. — Assimilabilité de divers hydrates de carbone par diverses levures, *Woch. f. Brauerei.*
- (67) LUBIMENKO et FROLOFF BRAGREIEF, 1912. — Influence de la lumière sur la fermentation du moût de raisin, *C. R. A. S.*
- (68) MACÉ, 1911. — Traité de Bactériologie, Paris.
- (69) MAQUENNE. — Les Sucres, Paris.
- (70) MARTINAND (V.), 1913. — Les microorganismes que l'on rencontre sur les raisins au moment de leur maturité, *Ann. B. et D.*
- (71) MARTINAND, 1871. — Influence des rayons solaires sur les levures, *C. R. A. S.* t. CXIII.
- (72) MARX (L.), 1888. — Les levures de vin, *Moniteur Scientifique.*
- (73) MATHIEU (L.), 1911. — Le levurage en vinification, *Rev. Vit.*
- (74) MAYER, 1906. — Gährungs Chemie, Heidelberg.
- (75) MÜLLER-THURGAU (H.), 1809. — Ueber den Ursprung der Weinhefen, *Weinbau und Weinh.* nos 40 et 41.
- (76) MÜNTZ, 1897. — La formation de l'ammoniaque dans les vins, *Bull. Min. Agriculture.*
- (77) NEUBERG et KERB, 1913. — Sur le processus de la fermentation par la levure, *Ann. B. et D.*
- (78) OTTOLENGHI (D.). — Structure des levures, *Anal. in : Bull. I. P.*, t. VIII.
- (79) PASTEUR, 1859. — Mémoire sur la fermentation alcoolique, *Ann. Ch. et Phys.*
- (80) PASTEUR, 1873. — Etudes sur le vin, Paris.
- (81) PASTEUR, 1875. — Nouvelles observations sur la nature de la fermentation alcoolique, *C. R. A. S.*
- (82) PASTEUR, 1876. — Etudes sur la bière, Paris.
- (83) PRINGSHEIM (Hans), 1907. — Ueber Stickstoffnahrung der Hefe, *Biochem. Zeitschr.*, III.
- (84) ROSENBLATT et ROZENBAND, 1910. — Recherches sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la fermentation alcoolique, *Ann. I. P.*
- (85) SCHUTZENBERGER, 1892. — Les fermentations, Paris.
- (86) SCHWARZ (Oswald), 1911. — Sur la décomposition des substances azotées par la levure, *Anal. in : Bull. I. P.*
- (87) STERN. — Nutrition de la levure, *Journal of chem. Soc.*, 1894.
- (88) THOMAS, 1901. — Sur la nutrition azotée de la levure, *C. A. R. S.*
- (89) TOLLENS. — Les Hydrates de Carbone.

- (90) VAN HEST I.), 1903. — Beiträge zur Kenntnis wilder Hefen. *Zeitsch. f. d. Gesellsch. Brau.*, XXVI).
- (91) VENTRE (J.), 1913. — Influence des levures et de la constitution initiale des moûts sur l'acidité des liquides fermentés, *Anal. in : Ann. B. et D.*
- (92) WERNER WUEST, 1911. — Sur le dosage de l'azote dans les moûts et dans la bière, *Zeitsch. f. d. gesamte Brauwesen.*
- (93) WILL. (H.), 1909. — Beobachtungen an Hefekonservation in 10 Proz. Rohrzuckerlösung, *Centralbl. f. Bakt.*, XXIV.

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Minéralogie. — PHOSPHATES D'ALGÉRIE ET DE TUNISIE.

Zoologie. — LES HÉMOSPORIDIES.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 3 décembre 1913

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

PAUL APPELL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

L. LIARD.

